

**Natürliche
Strongyliden-Infektionen
bei Gestütsperden
unter besonderer Berücksichtigung
der Möglichkeiten und Grenzen
serologischer Untersuchungen**

Wolfgang Pöllein

Disbui. München

1989



Digitized by the Internet Archive
in 2026



Aus dem
Institut für Vergleichende Tropenmedizin und Parasitologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Prof. Dr. R. Gothe

Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. M.-A. Hasslinger

**Natürliche Strongyliden-Infektionen bei Gestütsperden
unter besonderer Berücksichtigung der Möglichkeiten
und Grenzen serologischer Untersuchungen**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Wolfgang Pöllein
aus
Münchberg

München 1989

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Univ.-Prof. Dr. M.-A. Hasslinger

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. W. Kraft

Tag der Promotion: 24. Februar 1989

Verzeichnis

Seite

I. Einleitung

7

II. Die Bedeutung der Psychoanalyse für die Aufklärung des Geistes und die Kraft menschlichen Willens im Licht der Literatur

8

A. Die Rolle der psychoanalytischen Theorie und der psychoanalytischen Methode in der Geschichte der Literaturwissenschaft

9

B. Meinen Eltern gewidmet

11

C. Die Bedeutung der Psychoanalyse für die Literaturwissenschaft

12

D. Die Bedeutung der Psychoanalyse für die Literaturwissenschaft

13

E. Die Bedeutung der Psychoanalyse für die Literaturwissenschaft

14

F. Die Bedeutung der Psychoanalyse für die Literaturwissenschaft

15

III. Die Bedeutung der Psychoanalyse

16

A. Die Bedeutung der Psychoanalyse

17

B. Die Bedeutung der Psychoanalyse für die Literaturwissenschaft

18

C. Die Bedeutung der Psychoanalyse

19

D. Die Bedeutung der Psychoanalyse für die Literaturwissenschaft

20

E. Die Bedeutung der Psychoanalyse für die Literaturwissenschaft

21

F. Die Bedeutung der Psychoanalyse für die Literaturwissenschaft

22

IV. Die Bedeutung der Psychoanalyse

23

A. Die Bedeutung der Psychoanalyse

24

B. Die Bedeutung der Psychoanalyse für die Literaturwissenschaft

25

V. Die Bedeutung der Psychoanalyse

26

A. Die Bedeutung der Psychoanalyse

27

B. Die Bedeutung der Psychoanalyse für die Literaturwissenschaft

28

VI. Die Bedeutung der Psychoanalyse

29

A. Die Bedeutung der Psychoanalyse

30

VII. Die Bedeutung der Psychoanalyse

31

A. Die Bedeutung der Psychoanalyse

32

<u>Inhaltsverzeichnis</u>	Seite
I. Einleitung	7
II. Die Infektion mit Pferdestrongyliden und die Möglichkeit ihrer Diagnose auf der Basis serologischer Verfahren (anhand der Literatur)	8
A) Biologie und pathogene Eigenschaften großer und kleiner Strongyliden einschließlich klinischer Symptomatik und chemotherapeutischer Möglichkeiten	8
B) Serologische Untersuchungen	14
1) Elektrophoretische Untersuchungen bei künstlich hervorgerufenen Infektionen	14
2) Elektrophoretische Untersuchungen natürlicher Infektionen	16
3) Das Immunglobulin-G(T) als serodiagnostische Alternative bei Strongylideninfektionen	21
4) Serologische Methoden zum Nachweis von Antikörpern gegen Strongyliden und Untersuchungen über die Antigenspezifität dieser Parasiten	26
III. Eigene Untersuchungen	31
A) Material und Methoden	31
1) Tiermaterial, Probenentnahmen, Kotuntersuchung und Therapie	31
2) Serologische Verfahren	33
a) Antigengewinnung für den ELISA	33
b) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)	37
c) Aglutinade ^R Strongyle Test	43
B) Ergebnisse	45
1) Kotuntersuchungen	45
2) ELISA und Agglutinationstest	51
IV. Besprechung der Ergebnisse	61
1) Kotuntersuchungen	61
2) ELISA und Agglutinationstest	63
V. Zusammenfassung	68
Summary	69
VI. Literaturverzeichnis	70
Lebenslauf	

I. Einleitung

Die heute überwiegende Nutzung des Pferdes als Reit- und Hobbytier führte vor allem in den letzten Jahren durch den wachsenden Freizeitsport zu einer unverkennbaren Erhöhung der Bestandsdichte in der Bundesrepublik Deutschland. Für die häufig auf engem Raum gehaltenen Pferde stellen parasitäre Infektionen einen bedeutenden Faktor dar, da sie die Gesundheit und Leistung wesentlich beeinträchtigen können.

Im Mittelpunkt des tierärztlichen Interesses steht hierbei der Strongyloidenebefall, der nach wie vor die wichtigste Schmarotzer-Erkrankung der Equiden verkörpert. Die gezielte Einleitung und Überwachung therapeutischer Maßnahmen erfordert jedoch möglichst sensitive Diagnoseverfahren, wobei durch traditionelle Methoden pathogene larvale Entwicklungsformen mit unterschiedlichster Lokalisation im Wirtsorganismus nicht erfaßt werden. Die Anwendung der Serologie zum Nachweis präpatenter Stadien konnte bisher nur in experimentellen auf Monoinfektionen beruhenden Modellversuchen zufriedenstellende Resultate erbringen.

In der vorliegenden Arbeit war es deshalb von Interesse, den Parasitenbefall unter natürlichen Bedingungen während einer Weideperiode zu verfolgen, wobei auch Behandlungsmaßnahmen durchgeführt wurden. Darüberhinaus galt es, mit Hilfe des Enzyme-Linked Immunosorbent Assays den Verlauf der Antikörperbildung in Adulttieren und Fohlen zu studieren und Aussagen über unterschiedliche Antikörperaktivitäten und kreuzreagierende Eigenschaften zu erhalten. Weiterhin wurde die Eig-nung der semiquantitativen Bestimmung der IgG(T)-Konzentration im Hinblick auf den Therapieerfolg und die Diagnosemöglichkeit der Strongyloidinfektion überprüft.

II. Die Infektion mit Pferdestrongyliden und die Möglichkeit ihrer Diagnose auf der Basis serologischer Verfahren (anhand der Literatur)

A) Biologie und pathogene Eigenschaften großer und kleiner Strongyliden einschließlich klinischer Symptomatik und chemotherapeutischer Möglichkeiten

Die parasitisch lebende Nematodenfauna der Pferde umfaßt weltweit ein breites Spektrum von 75 Arten (LICHTENFELS, 1975). Zu den häufigsten und auch ökonomisch bedeutendsten bei den Equiden vorkommenden Endoparasiten zählen die zur Familie Strongylidae gehörenden Palisadenwürmer. Ihr Speziesreichtum wird auch heute durch neu entdeckte Formen ergänzt (LICHTENFELS und KLEI, 1988). Auf Grund morphologischer und biologischer Kriterien haben sie allgemein als große und kleine Strongyliden in der Literatur Eingang gefunden. Die Gruppe der großen Palisadenwürmer wird von *Strongylus vulgaris*, *Strongylus edentatus* und *Strongylus equinus* vertreten, während die mehr als 40 Arten umfassenden kleinen Strongyliden, sowohl die Subfamilie Strongylinae mit den Gattungen *Triodontophorus*, *Oesophagostomum* und *Craterostomum* repräsentieren, als auch der Unterfamilie Trichonematinae mit den Gattungen *Trichonema*, *Cylicocercus*, *Cylicocylcus*, *Cylicostephanus*, *Cylicodontophorus*, *Cylindropharynx*, *Gyalocephalus* und *Poteriostomum* angehören (HIEPE, 1985).

Die exogene Phase dieser stenoxenen Geohelminthen verläuft nach einem für alle Vertreter gleichen Entwicklungsschema: Die gefurchten, längs-ovalen dünnchaligen Eier gelangen mit dem Pferdekot in die Außenwelt. Innerhalb eines von klimatischen und jahreszeitlichen Faktoren beeinflussten Zeitraumes von 5 bis 14 Tagen (HASSLINGER, 1981) entwickeln sich nach zwei abgeschlossenen Häutungen infektionstüchtige Drittlarven (La III). Sie sind von einer Scheide umgeben und bilden einen gegenüber negativen Umwelteinflüssen relativ resistenten Organismus. Der endogene Entwicklungszyklus im Wirt beginnt mit der Aufnahme der gut beweglichen, aus dem Kot ausgewanderten 3. Larvenstadien per os. Dies geschieht entweder durch Aufnahme von Futter (taunasses Gras) oder durch Ablecken

der an feuchten Stallwänden emporgewanderten La III. Im Dünndarm wird die Scheidenhülle abgeworfen, was nach OGBOURNE und DUNCAN (1985) durch bestimmte physiko-chemische Stimuli im Intestinallumen der Equiden induziert wird. Die sich anschließende histotrope Entwicklungsphase gestaltet sich artspezifisch unterschiedlich, so daß sie bei den einzelnen Spezies gesondert beschrieben werden muß.

Nach Häutung zur La IV in der Schleimhaut von Zäkum und ventralem Kolon dringen die Larven von Strongylus vulgaris 6 bis 8 Tage nach der Infektion in Arteriolen der Submukosa ein (ENIGK, 1983) und erreichen frühestens nach 11 bis 14 Tagen die A. ileocolica und A. mesenterica cranialis (DUNCAN und PIRIE, 1973). Die Wanderung erfolgt in kleineren Gefäßen auf der Intima, während sie in großen Arterien in der Intima stattfindet, was Endothelläsionen, Thromben- und Aneurysmenbildung nach sich zieht. ENIGK (1983) stellt im Zusammenhang mit immunologischen Abwehrmechanismen des Wirtes fest, daß Larven, die bis in die Aorta vordringen und dort auf die intakte Intima gelangen, als Emboli mit dem starken Blutstrom in periphere Arterien getragen werden und nach Auflösung auf Grund ihres antigenen Charakters eine rasche und starke Bildung von Antikörpern bewirken. Der Großteil der Larven hält sich vom 44. bis 111. Tag in der vorderen Gekrösearterie auf, wo sie mehrheitlich in den durch Gefäßwandschädigungen verursachten Aneurysmen zu finden sind. Nach Häutung zum präadulten Stadium wandern die Formen auf dem Blutweg zur Dickdarmwand zurück, in der sie Wurmknotten bilden, aus denen sie als junge Adulti in das Darmlumen zurückkehren. Nach einer Präpatenz von 6 bis 6¹/₂ Monaten beginnen die Weibchen mit der Eiablage. Obwohl die als Blutsauger lebenden Adultformen von Str. vulgaris Irritationen der Dickdarmschleimhaut hervorrufen, die sich als Ulzerationen manifestieren können (DUNCAN, 1973) oder auch mit Geschwürsbildung einhergehen (OGBOURNE und DUNCAN, 1985), stehen die durch die Migrationsstadien verursachten pathologischen Veränderungen und die klinische Symptomatik weit mehr im Vordergrund. Neben Blutungen in der Serosa, Mukosa und Submukosa des Darmes verursachen die wandernden Larven Entzündungen kleiner Arterien und auch großer Gefäße (A. mesenterica cranialis), wobei auch Thrombosen festgestellt wurden (DUNCAN und PIRIE, 1975). Nach DAHME und WEISS (1983) entsteht be-



vorzugt im Bereich der *A. ileocaecocolica* als Folge einer wiederholt verlaufenden Enderteriitis verminosa ein Arrosionsaneurysma. Als Komplikationen treten die tödlich verlaufende Gefäßruptur, ein Darmwandinfarkt (BURKHARDT, 1983) und embolisch-thrombotische Kolik (COFFMAN und CARLSON, 1971) auf. Das "intermittierende Hinken" als Ausdruck einer verminderten Durchblutung infolge reitender Thromben wird im Gegensatz zu BURKHARDT (1983) von GERHARDS und ROSENBRUCH (1984) nicht in direkten Zusammenhang mit wandernden Strongylidenlarven gebracht. Der Befund einer granulomatösen Lymphadenitis durch verirrte Strongylidenlarven wurde von TEREDESAI (1975) erhoben. LITTLE et al. (1974) stellten bei Versuchspferden eine akute Enzephalitis verminosa fest.

Die in die Schleimhaut von Zäkum und ventralem Kolon eindringenden infektiösen La III von Strongylus edentatus erreichen über die Portalvenen in weniger als 40 h post infectionem die Leber (McCRAW und SLOCOMBE, 1974), wo sie mehrere Wochen umherwandern und sich zur La IV häuten. In der 10. Woche werden sie retroperitoneal liegend in der Leber und der Flankengegend gefunden. Die vierte Häutung vollzieht sich etwa in der 16. Woche. Nach Rückwanderung über das Ligamentum hepatorenale erscheinen ab der 40. Woche adulte Würmer im Darmlumen von Zäkum und Colon (McCRAW und SLOCOMBE, 1978), die Präpatentperiode beträgt 10¹/₂ bis 11 Monate (HIEPE, 1985). Leberschäden manifestieren sich in weißlichen, auf einer rauen Oberfläche liegenden Herden, die Aggregationen mononukleärer und eosinophiler Zellen darstellen, sowie in Kapselschwellungen. Daneben treten Adhäsionen und Zerreißungen des Netzes und nekrotische Schädigungen der Hauptvenen von Zäkum und Kolon auf (McCRAW und SLOCOMBE, 1974, 1978). Die Larvenwanderung geht vornehmlich mit wechselnden Fieberschüben, Verdauungsstörungen, Koliken, Diarrhoe und Entwicklungsstörungen einher (DRUDGE, 1972).

Die infektiösen Larven III von Strongylus equinus bilden nach dem Einbohren in die Mukosa vor allem im Bereich des Blinddarmkopfes Knötchen, die bei stärkerem Befall auch im Zäkumkörper und ventralen Kolon zu finden sind (BOCH und SUPPERER, 1983). Die Häutung zur La IV findet in etwa 11 Tagen post infectionem statt. Während ein Teil dieser For-

men weiterhin in der Darmwand umherwandert und Koliken auslösen kann, gelangt der größte Teil nach Durchbruch der Serosa in die Peritonealhöhle, von wo aus die Leber erreicht wird. Nach McCRAW und SLOCOMBE (1985) verbleiben sie dort bis zur 12. Woche post infectionem. Die Häutung zum präadulten Stadium wird schließlich im Pankreas vollzogen mit anschließender Rückkehr zum Zäkum und Kolon. Die Präpatenzzeit dauert $8\frac{1}{2}$ bis $9\frac{1}{2}$ Monate. Klinisch werden bei der Equinus-Strongylose Fieber, verminderter Appetit und Kümmeren beobachtet. Nach KAMHUBER (1987) werden in unseren Regionen durchwegs niedrige Befallsraten verzeichnet, so daß dieser Parasitenspezies offensichtlich geringe Bedeutung zukommt.

Die Entwicklungsphase der kleinen Strongyliden gestaltet sich einfacher, da ihre Wanderung sich auf die Darmwand von Zäkum und Kolon beschränkt. Die entscheidenden, infektiösen Larven III dringen bis zur Basis der Lieberkühnschen Krypten vor, wo sie verweilen oder weiter in die Muskularis vordringen. Durch Gewebsreaktion des Wirtes werden die Larven von Fibroblasten umgeben und in der Submukosa zusätzlich von dickwandigen fibrösen Kapseln umschlossen. Bei *Cylicostephanus*-Spezies beschränkt sich die Entwicklung auf die Mukosa, wo innerhalb von 6 bis 12 Tagen die La IV entstehen, die erst im Darmlumen nach Häutung zu geschlechtsreifen Würmern heranreifen (OGBOURNE, 1978). Anders zeigt sich die Situation bei *Gyalocephalus capitatus* und *Cylicocycylus* spp., welche die Submukosa invadieren und dort, noch vor Rückkehr ins Darmlumen nach 28 bis 60 Tagen, die vierte Häutung beginnen (OGBOURNE, 1978). Die Präpatenz wird mit 5 bis 12 Wochen angegeben (HASSLINGER, 1986). Ein Teil der Larvenpopulation, die im Herbst aufgenommen wird, unterliegt einer Entwicklungsunterbrechung in der Dickdarmschleimhaut des Wirtes. Dies geschieht entweder als frühes Viertstadium (MICHEL, 1974) oder, wie EYSKER et al. (1984) nachweisen konnten, als frühe Stadien der La III. Dieses Phänomen wird von OGBOURNE (1975) als saisonale Anpassung an widrige Umweltfaktoren gedeutet. Daneben werden immunologisch-regulative Mechanismen durch den Wirt gegenüber der "parasitären Biomasse" diskutiert (GIBBS, 1986). Das bisweilen massive und gleichzeitige Hervordringen der ursprünglich inhibierten Larven aus der Mu-

kosa im späten Winter und Frühjahr (GILES et al., 1985) wird klinisch als Diarrhoe, Kolik und Gewichtsverlust diagnostiziert (CHIEJINA und MASON, 1977, CHURCH et al., 1986). Aufgrund natürlicher Cyathostomen-Infektionen werden Motilitätsstörungen im Bereich des Ileums, Zäkums und Kolons festgestellt, die den Weitertransport des Nahrungsbreies und den Appetit der Tiere negativ beeinflussen (BUENO et al., 1979). Pathologisch-anatomisch kann durch Entwicklungsformen kleiner Strongyliden nach JASKO und ROTH (1984) eine diffuse granulomatöse Colitis mit hyperämischen Herden entstehen. ROSENBRUCH und BAUER (1983) stellen neben parasitär bedingten Läsionen hirnwindungsähnliche Reliefs im Kolon und Zäkum fest. Die adulten Trichonematinae besitzen eine geringere pathologische Bedeutung, da die Mehrzahl der Spezies sich von oberflächlichen Zellen des Stratum glandulare ernährt. Bei starker Infektion kann jedoch die digestive und resorptive Funktion des Darmes reduziert werden. Durch Zerstörung der Mukosa entsteht eine katarrhalische Enteritis, die die Entstehung bakterieller Sekundärinfektionen begünstigt.

Neben dem Einsatz von Anthelminthika während der Weideperiode kann bereits die Metaphylaxe vor Beginn der Weidesaison wirksam den Parasitenbefall eindämmen. Die mit dem Kot der Stuten im Frühjahr ausgeschiedenen Strongylideneier stellen nämlich das Hauptreservoir für eine Infektion der Fohlen dar (DUNCAN, 1974), zumal nur etwa 5 % der überwinterten Eier infektionsbereite Drittlarven hervorbringen (HASSLINGER, 1981). Auf Grund der in jüngerer Zeit nachgewiesenen Benzimidazolresistenz kleiner Strongyliden (BAUER et al., 1983, HASSLINGER, 1985) ist eine genaue Auswahl der zur Verfügung stehenden therapeutischen Mittel unumgänglich. Während Cambendazol, Febantel, Mebendazol, Fenbendazol und Thiabendazol eine eingeschränkte Wirksamkeit aufweisen, zeigen sich Pyrantel-Pamoat, Oxibendazol und Ivermectin als effektiv (BAUER et al., 1986, HERD, 1986, BÜRGER und BAUER, 1987).

Der Wirkstoff Ivermectin, ein makrozyklisches Lakton, wird aus chemisch modifizierten Fermentationsprodukten des Strahlenpilzes *Streptomyces avermitilis* hergestellt und zeichnet sich durch ein breites Wirkungsspektrum gegen die wichtigsten Endoparasiten des Pferdes aus. In bezug auf

den Strongylidenbefall umfaßt der Wirkungsbereich der Injektionslösung nicht nur adulte Exemplare, sondern auch endogene Entwicklungsformen kleiner Palisadenwürmer (HASSLINGER und BARTH, 1982) und Wanderstadien von *Str. edentatus*. Gegenüber späten arteriellen Viertlarven von *Str. vulgaris* besteht ebenfalls eine hohe Wirksamkeit, die auch mit der Pastenformulierung erreicht wird (KLEI et al., 1984, SLOCOMBE, 1987).

Letztere wurde bei der Bekämpfung natürlicher Strongylideninfektionen in der therapeutischen Dosierung in verschiedenen Versuchsreihen im Hinblick auf ihre Effektivität und Aktivitätsdauer überprüft:

DI PIETRO et al. (1986) stellten bei insgesamt 40 Warmblut- und Araberstuten am 70. Tag nach der Behandlung noch eine 93,4 %ige Reduktion der mittleren EpG fest. Zum gleichen Zeitpunkt beobachtete SCHATZMANN (1986) bei 10 Weidepferden nur bei einem Tier das erneute Auftreten von Parasiteneiern im Kot.

SLOCOMBE und COTE (1984) unterzogen dreizehn 2 bis 5 Jahre alte Warmblutpferde einer Therapie. Die EpG der Tiere variierte zwischen 150 und 3.300, wobei mehrheitlich kleine Strongyliden nachgewiesen wurden. Erst 14 Wochen nach dem Behandlungstermin schieden alle untersuchten Pferde wieder Parasiteneier in geringen Mengen aus (EpG < 144). Da die Versuchstiere nur einem geringen Reinfektionsdruck ausgesetzt waren, galt dies als Beweis für die gute Aktivität des oral verabreichten Endozides gegenüber unreifen und hypobiotischen Formen kleiner Strongyliden.

Letzteres bestätigten auch BAUER et al. (1986). Außerdem ließ sich von den Autoren bei 64 Weidetieren eine 95 - 100 %ige Suppression der fäkalen Eizahlen 6 Wochen nach Einsatz des Anthelminthikums nachweisen.

Bei hoher Weideinfektiosität mit kleinen Strongyliden stellte HERD (1986) fest, daß auch wiederholte Bekämpfungsmaßnahmen mit Ivermectin in achtwöchigen Intervallen bei Jungtieren zu einer geringeren Parasitenelimination im Vergleich zu adulten Pferden führten. Als Ursache diskutierte man eine höhere Anzahl von Gewebsstadien, die aufgrund ihrer Lokalisation für das Antiparasitikum weniger gut zugänglich sind.

Eine unvollständige larvizide Wirkung bemerkten auch HERD und KENT (1986) bei Jährlingen, die 3 Monate nach der Therapie trotz geringer Reinfektionsmöglichkeiten wieder Strongylideneier ausschieden.

B) Serologische Untersuchungen

Die gebräuchlichsten helminthologischen Diagnoseverfahren beruhen auf dem direkten koproskopischen Nachweis von eierlegenden, im Lumen des Intestinaltraktes parasitisch lebenden weiblichen Adulten. Nach ROUND (1968a) kann damit die Anwesenheit von juvenilen Würmern, männlichen Exemplaren oder von pathologische Ereignisse hervorrufoenden larvalen Entwicklungsstadien in verschiedenen Organen und Geweben nicht aufgedeckt werden. Hinzu kommen weitere Unsicherheiten, da eine niedrige oder negative fäkale Eiausscheidung in einem gesunden Tier auf eine geringe Wurmbürde schließen läßt, die jedoch bei kranken und in schlechtem Allgemeinzustand sich befindenden Tieren sehr vorsichtig zu interpretieren ist. Im Schrifttum nimmt die Darstellung alternativer Wege zur Objektivierung parasitologischer Diagnostik einen immer größer werdenden Bereich ein. So wurde mit unterschiedlichsten serologischen Methoden versucht, einen Parasitenbefall indirekt über den Antikörperrnachweis zu erkennen.

1) Elektrophoretische Untersuchungen bei künstlich hervorgerufenen Infektionen

Bei experimentellen Infektionen, die sowohl mit 3.500 La III als auch mit 5.000 La III von *Str. vulgaris* bei parasitenfrei aufgezogenen Fohlen durchgeführt wurden, stellte das Arbeitsteam von DRUDGE et al. (1966) fest, daß in den Globulinfraktionen ein deutlicher Anstieg in der 1. Woche post infectionem (p. i.) erfolgte. Vor allem die β - und γ -Komponenten wuchsen signifikant an, während die Werte der α -Komponente nach 14 Tagen stagnierten. Innerhalb der Albuminfraktion konnte kein Zuwachs verzeichnet werden. Die Verabreichung von kleinen Larvendosen (25×250 La III) über einen Zeitraum von 16 Wochen bewirkte einen chronischen Krankheitsverlauf, wobei serologisch eine Zunahme der α - und β -Globulinkomponenten zu verzeichnen war, jedoch die γ -Globuline nach vierwöchigem Anstieg auf relativ kleine Werte abfielen.

ROUND (1970) konnte keine Hypergammaglobulinaemie bei einer einmaligen Infektion mit 700 oder 1.500 La III nachweisen. So fällt das Hauptaugenmerk auf die Veränderung des β -Globulingehaltes, der mit einer symmetrischen monophasischen Kurve beschrieben werden kann, deren

Maximum in der 18. bis 20. Woche p. i. erreicht wird. Dies spiegelt den Zeitpunkt kurz vor Beginn der Patenz wider und ist nach ROUND (1970) mit den larvalen Migrationsstadien korreliert, vor allem deswegen, weil während der patenten Phase die β -Globulinwerte kontinuierlich fallen und Normalwerte erreichen. Mit einer einmaligen Verabreichung von 750 infektiösen Drittlarven von *Strongylus vulgaris* an wurmfreie Fohlen konnten DUNCAN (1973) sowie DUNCAN und PIRIE (1975) einen Anstieg des Gesamtproteins feststellen, der in erster Linie auf eine Zunahme der Serumglobuline und hier vor allem der β -Fraktion beruhte.

Über Untersuchungen der Serumproteinveränderungen bei experimenteller Infektion mit *Strongylus vulgaris*-La III an parasitenfreien (PF) Fohlen berichten auch AMBORSKI et al. (1974). Während sich sowohl das Serumalbumin als auch die α - und γ -Globulinkonzentration innerhalb von Normbereichen bewegten, war ein signifikanter Anstieg der β -Globulinfraktion bei Infektionsdosen mit 500 La III und 5.000 La III ab der 7. Woche p. i. als Folge wandernder Larvalstadien zu erkennen. Auch die kleinere Anzahl von 50 Drittlarven, die wöchentlich über einen Zeitraum von 70 Tagen verabreicht wurden, bestätigte das obige Ergebnis.

Das quantitative Verhalten der Serumeiweißkörper wurde auch in den verschiedensten Reinfektionsexperimenten studiert. ROUND (1970) verwendete 1 $\frac{1}{2}$ jährige Pferde mit patenten Monoinfektion (*Str. vulgaris*). Nach Infektion mit 1.000 La III erfuhren die β -Globuline früher als bei der Erstinfektion ab einem Zeitraum von 2 Wochen eine deutliche Zunahme, die in der 6. und 18. bis 22. Woche in ein Maximum gipfelte. Normalwerte wurden nach 36 Wochen erreicht und innerhalb der Patenz beibehalten. Andere elektrophoretische Befunde wurden von AMBORSKI et al. (1974) erhoben. Die Autoren bemerkten die anfänglich hohe Konzentration der β -Globuline bei natürlich auf der Weide mischinfizierten Ponys (*Str. vulgaris*, *Str. edendatus*, kleine *Strongyliden*). Eine sich anschließende Infektion mit 5.000 Drittlarven von *Str. vulgaris* erhöhte den β -Globulinwert nur geringfügig, während bei einer 4 Monate später durchgeführten Zweitinfektion mit gleicher Larvendosis sogar die Konzentration auf Bereiche absank, die denen der Kontrolltiere entsprach. PATTON et al. (1978) fanden ebenfalls nur geringgradige Ver-

änderungen in den elektrophoretischen Profilen bei 6 Monate alten Fohlen, denen 5 Wochen nach vorangegangener Infektion eine Booster-Dosis mit 5.000 infektiösen *Str. vulgaris*-Drittlarven verabreicht wurde. Bis auf eine Ausnahme konnte auch KENT (1987) bei Pony-Jährlingen keinen Anstieg in der β -Globulinbande verzeichnen. Die Pferde wurden 34 Wochen nach der ersten Infektion erneut mit 200 La III, ein Teil der Tiere auch mit 700 La III von *Str. vulgaris*, reinfiziert.

ROUND (1970) beschreibt zum ersten Mal im experimentellen Modell die Veränderung der β -Globulinwerte bei wurmfrei aufgezogenen Fohlen, die erstmals mit 105.000 infektiösen La III kleiner Strongyliden infiziert wurden. Der Anstieg der β -Globuline konnte bei den 10 bis 13 Monate alten Tieren 5 bis 6 Wochen p. i. verzeichnet werden und erreichte somit eine gute Übereinstimmung mit den aus den Erstinfektionen mit 1.500 *Str. vulgaris* Larven errechneten Werten. Die Maxima traten in der 10. und 13. Woche auf, bei einem Versuchstier erst in der 18. Woche. Die Variationen in den α_1 -, α_2 - und γ -Globulinwerten hielten sich in engen Grenzen. Diese Ergebnisse ließen erkennen, daß die Veränderungen der β -Globulinwerte zu einem weitaus größeren Teil von den spezifischen Entwicklungscharakteristika der einzelnen Spezies abhängen, als von der absoluten Anzahl invasiver Stadien oder alternativ von der Menge verabreichten Nematodengewebes.

Reinfektionsuntersuchungen mit einer einmalig verabreichten Dosis von 110.000 Drittlarven kleiner Strongyliden sollten Aufschluß über das Verhalten der Serumeiweißkörper bei Pferden geben, die bereits mit einer patenten Monoinfektion kleiner Strongyliden behaftet waren. So konnte im Vergleich zu den erstinfizierten Tieren ein rascherer (7 Tage p. i.) Anstieg der β -Globulinfraktion bei allen Pferden verzeichnet werden. Während bei einer Versuchsgruppe die Maximalwerte nach 4 Wochen erreicht wurden, verzögerte sich dieser Zeitraum bei anderen Tieren um eine weitere Woche. Normalwerte wurden 19 Wochen nach der Reinfektion festgestellt.

2) Elektrophoretische Untersuchungen natürlicher Infektionen

Im natürlichen Infektionsgeschehen stellen die Palisadenwürmer einen beachtenswerten Anteil der im Darm des Pferdes schmarotzenden Hel-

minthenfauna. Innerhalb dieser Gruppe gehören maximal 10 % den großen Strongyliden an (HASSLINGER, 1986), während kleine Strongyliden einen Anteil von 90 bis 100 % erreichen (ROUND, 1968a). Hinsichtlich der Befallshäufigkeit innerhalb der Pferdepopulation wurden Werte von 91 bis 100 % ermittelt (HASSLINGER, 1963, HASSLINGER und REHM, 1968).

Aufbauend auf oben dargestellten experimentellen, meist auf Monoinfektion beruhenden Modellen, sollen durch serologische Untersuchungsverfahren die diagnostischen Möglichkeiten vor allem im Hinblick auf die klinisch bedeutende präpatente Phase dieser Endoparasiten erweitert werden. Die einschlägige Literatur läßt hierzu unterschiedliche Ansatzpunkte in den Versuchsdurchführungen erkennen.

ROUND (1970) kommt zu dem Ergebnis, daß bei ursprünglich wurmfreien Ponys oder Pferden, die innerhalb von 18 Monaten keiner parasitären Infektion unterlagen, besonders die erhöhte Konzentration des Serum- β -Globulins einen zuverlässigen Indikator für den Grad der parasitären Affektion mit Nematoden im Weidebetrieb darstellt. Offensichtlich war auch, daß eine längere Auseinandersetzung mit den Parasiten die absolute Zunahme der β -Globulinfraktion verringerte.

Während SCHOTMAN (1963) bei Wurmaneurysma und Helmintheninfektion eine mehr oder weniger starke Erhöhung aller Globulinfraktionen diagnostiziert, stellt ROUND (1968a) in der Besprechung seiner serumelektrophoretischen Ergebnisse den Anstieg der Gesamtproteine in den Vordergrund. Der Autor erklärt dies in erster Linie mit einer Zunahme der β -Globulin- und teilweise der α_2 -Globulinfraktion bei Jährlingen, die unterschiedlichen natürlichen Infektionsbedingungen auf der Weide ausgesetzt waren und deren EpG zwischen 50 und 1.750 variierte.

Als hochsignifikant bezeichneten auch OOMS et al. (1976) die vergrößerten α - und β -Globulinwerte, die bei 198 Pferden mit parasitologisch positivem koproskopischen Befund und eindeutigem klinischen Vorbericht (struppiges Fell, wechselnder Appetit, abdominale Schmerzen, intermittierende Diarrhoe), erstellt wurden. Gleiche elektrophoretische Ergebnisse wurden von den Autoren bei 41 Tieren gewonnen, deren Sektion Wurmaneurysmen der *A. mesenterica cranialis* und in anderen Fällen

verminöse Endarteriitis der Aorta zeigte. Als Basiswert diente der bei einer Gruppe gesunder Pferde ermittelte prozentuale Anteil der α -Fraktion ($18,3 \pm 2,5 \%$) und der β -Fraktion ($18,8 \pm 2,4 \%$) am Gesamtserumprotein. Verglichen mit den Kontrollgruppen konnte trotz des Anstieges des Gesamtserumproteins ein Abfall in der Albuminfraktion verzeichnet werden. Letzteres wurde schon von SCHOTMAN (1963), ROUND (1968a) und ROUND (1971) experimentell bestätigt. Der Grad der Hypalbuminaemie hängt von der klinischen Verfassung ab, denn je stärker ein Tier durch parasitären Einfluß erkrankt, um so niedriger sinkt der Serumalbumingehalt (OOMS, 1976).

Von GILES et al. (1985) liegt ein Bericht vor, der Veränderungen der Serumproteine bei Befall mit kleinen Strongyloiden behandelt. Obwohl der fäkale Einachweis der 15 Pferde fast durchweg ein negatives Ergebnis erbrachte, konnten in der Darmmukosa und teilweise im Kot Viertstadien nachgewiesen werden. Neben der ausgeprägten klinischen Symptomatik (chronische profuse Diarrhoe, Gewichtsverlust und Muskelatrophie) zeichnete sich serumelektrophoretisch ein charakteristisch hoher Wert der α - und β -Globuline ab. In chronischen Fällen war das Gesamtserumprotein erniedrigt, zugleich jedoch die Globulinkomponente relativ erhöht, so daß das dadurch verringerte Albumin-Globulin-Verhältnis von den Autoren als diagnostisch relevant angesehen wurde.

Nach Untersuchungen jüngerer Datums (BAILEY et al., 1984) zeigten 64 auf natürliche Weise mit *Str. vulgaris* infizierte Pferde tendenziell höhere Konzentrationen in β_1 -, β_2 -, γ - und Gesamt- β -Globulinbereichen als parasitenfrei aufgezogene Fohlen. Auch Versuchspferde, bei denen auf Grund pathologischer Befunderhebungen keine wandernden Strongyloidenlarven in der *A. mesenterica* cranialis nachgewiesen werden konnten, lagen in ihren Globulinwerten über denen der PF-Ponys. Bei Vergleichen zwischen einzelnen Gruppen mit unterschiedlicher Befallsextenstität zeichnete sich keine statistisch signifikante Abweichung von der Zufallsverteilung der α_1 -, β_1 -, β_2 - und γ -Globulingehalte ab. Erst die Einbeziehung der Gesamt- β -Globuline ($\beta_1 + \beta_2$) und des Verhältnisses zwischen β -Globulinen und Gesamtprotein beschrieb die Situation bei stark mit *Str. vulgaris* infizierten

Tieren zufriedenstellend, was sich auch bei der α_2 -Globulinfraktion bestätigte. Zusätzlich konnten signifikant niedrigere Albuminwerte bei Tieren mit hochgradigen arteriellen Läsionen nachgewiesen werden.

Die Feststellung, daß die elektrophoretische Untersuchung einen objektiven Beitrag zur korrekten Diagnose von Helminthosen vor allem in Bezug auf das Wurmaneurysma darstellt (OOMS et al. 1976), wird von BAILEY et al. (1984) differenzierter behandelt. Letztere beobachteten bei teilweise hochgradig infizierten Tieren Gesamt- β -Globulinwerte unterhalb des errechneten Mittels aller untersuchten Pferde. Auf Grund beachtenswerter Überschneidungen zwischen den Versuchsgruppen, kamen die Autoren zu der Überzeugung, daß serumelektrophoretische Parameter nicht ausreichend die Infektionsintensität, gemessen an der Anzahl intraarteriell diagnostizierter Migrationsstadien von *Str. vulgaris*, beschreiben.

SCHULZE et al. (1983) studierten elektrophoretische Ergebnisse bei 50 Pferden, deren klinische Untersuchung eine Endarteriitis verminosa vermuten ließ. Zur Interpretation diente der prozentuale Anteil des β -Globulingehaltes am Gesamtserumprotein (Normwert: 9 bis 22,6 %). 29 Tiere besaßen β -Globulinwerte von 20 % und mehr, wobei innerhalb dieser Gruppe bei 12 Pferden die 25 %-Grenze überschritten wurde. Basierend auf Sektionsbefunden oder anhand der Verbesserung des klinischen Bildes nach Verabreichung larvizider Dosen von Fenbendazol und Thibendazol, konnte bei 10 dieser 12 Tiere die Diagnose der verminösen Arteriitis gestellt werden. Jedoch gibt es auch hier beachtliche Abweichungen. So besaßen nach Untersuchungen von BAILEY et al. (1984) vier der sechs am stärksten mit *Str. vulgaris* infizierten Tiere β -Globulinwerte unterhalb von 25 %, während bei neun Pferden, in denen keine oder nur eine Larve gefunden wurde, dieser Prozentsatz überschritten wurde.

ROUND (1973) wies darauf hin, daß besonders bei Veränderungen in den elektrophoretischen Profilen der β -Globulin-Bereich eine unveränderliche Begleiterscheinung der Strongylose darstellt. Analysen von über 3.000 Seren ergaben bei Pferden und Eseln, die unter wurmfreien Bedingungen aufgezogen wurden bzw. unter sehr guter antiparasitärer Behandlung

standen, β -Globulinwerte von 1 bis 1,5 g/100 ml Serum. Bei geringem Parasitenbefall wurden 2 bis 2,5 g/100 ml erreicht, während bei noch größerer Wurmbürde die Werte auf 7 bis 8 g/100 ml anstiegen. Der Einsatz von Anthelminthika bei natürlich mit gastrointestinalen Parasiten befallenen Pferden besitzt einen signifikanten Einfluß auf die Ausprägung elektrophoretischer Parameter.

FRERICHS et al. (1976) beobachteten bei 10 Shetland-Ponys, daß die mittlere Konzentration der β -Globuline bei 1,9 g/100 ml Serum lag, wenn die Tiere einer regelmäßigen monatlichen Behandlung mit Thiabendazol unterzogen wurden. Bei der nicht therapierten Kontrollgruppe, deren Tiere überwiegend Strongylideneier mit einer EpG von 250 bis 2.500 ausschieden, erreichte der Durchschnittswert 3,4 g/100 ml. Dieses Ergebnis entspricht in etwa den Angaben von ROUND (1968b). Bei monatlicher Verabreichung von Thiabendazol konnten hier Werte von 1,9 bis 2,4 g/100 ml nachgewiesen werden. Bei der Bekämpfung von Trichonema spp.-Larven mit Fenbendazol bei einem Fohlen verzeichneten JEGGO und SEWELL (1977) neben der Verbesserung der klinischen Symptomatik auch einen Abfall der β -Globuline von 2,6 g/100 ml auf 1,5 g/100 ml.

Von NUYTTEN et al. (1983) liegt ein Bericht vor, der die Anwendung von Ivermectin bei stark mit Askariden und kleinen Strongyliden befallenen Traber-Fohlen beschreibt. Den 24 Jungtieren wurde das Breitspektrumantiparasitikum parenteral in einer Dosis von 0,2 mg/kg KGW verabreicht. Elektrophoretisch konnte eine Normalisierung der β -Globulin-Fraktion innerhalb von 3 Monaten nach der Behandlung nachgewiesen werden. Der prozentuale Anteil am Gesamtserumprotein verringerte sich hierbei signifikant von 26,1 % auf 20,6 %, was von den Autoren mit einer guten Wirksamkeit des Präparates gegenüber migrierenden Larvenstadien großer Strongyliden interpretiert wurde, sofern Reinfektionen ausgeschlossen waren.

Für das Auftreten einer Hyperbetaglobulinaemie per se sieht COFFMAN (1979), nach Ausschluß chronischer Lebererkrankungen, die Strongylose als Hauptursache an. Jedoch können auch andere parasitäre Einflüsse die β -Globulinwerte verändern, wie GREER et al. (1974) feststellen konnten. Die Autoren infizierten wurmfrei aufgezogene Ponyjährlinge, indem sie

eine Suspension aus 100.000 Strongyloides westeri-Larven in den Ohrgrund einbrachten. 5 Wochen post infectionem konnte eine Zunahme des Gesamtserumproteins beobachtet werden, was in erster Linie auf ein Anwachsen des β -Globulingehaltes beruhte, dessen Maximum in der 9. Woche bei mehreren Tieren zeitlich mit dem Verlust der patenten Infektion zusammenfiel. Da auch nach einer Zweitexposition die ermittelten Werte einschließlich der Albuminkonzentration erhöht blieben, vermuteten die Autoren, daß das Zeitintervall des β -Globulinanstiegs mit der Etablierung des Reinfektionsschutzes korreliert. Serumelektrophoretische Auswertungen von auf natürliche Weise infizierten Quarterhorse-Fohlen erbrachten aber keine signifikanten Veränderungen.

Andere Faktoren wie Onchozerkose, vorangegangene Vakzinierungen, aber auch saisonale Einflüsse werden bei SCHULZE et al. (1983) als mögliche Auslöser für eine Hyperbetaglobulinaemie in einem klinisch asymptomatischen Patienten diskutiert. Veränderte ernährungsphysiologische Bedingungen sind für den deutlichen Anstieg innerhalb der β -Globulinfraktion im Serum bei Helmintheninfektionen verantwortlich. In diesem Zusammenhang sieht SCHOTMAN (1963) die Ursache in einer verstärkten Mobilisation von Körperfetten, da von den mit Endoparasiten befallenen Tieren entweder nicht genügend Futter aufgenommen wird oder die Reabsorption von Nahrungsbestandteilen im Digestionstrakt gestört ist.

In der spezifischen Antikörperantwort gegenüber parasitären metabolischen oder somatischen Antigenen liegt nach AMBORSKI et al. (1974) die Basis für den Anstieg der β -Globuline bei einer experimentell hervorgerufenen Str. vulgaris-Infektion. Funktionelle immunologische Mechanismen stehen somit im Vordergrund wissenschaftlichen Interesses bei der Analyse serologischer Variabilität im Wirt gegenüber parasitären Einflüssen.

3) Das Immunglobulin-G(T) als serodiagnostische Alternative bei Strongy- lideninfektionen

Von den verschiedenen Immunglobulin-G-Subklassen des Pferdes nimmt besonders das IgG(T) in der Diagnostik der Strongyloidinfektionen einen wichtigen Platz ein. Die Bezeichnung "T" stammt von der Beobachtung,

daß es bei Pferden, die zur Tetanus-Antitoxin-Herstellung benutzt wurden, angereichert vorkommt. VAN DER SCHEER und WYCKOFF (1940) haben dies anhand einer neuen, sich stark hervorhebenden T-Komponente dokumentiert, deren elektrophoretisches Wanderverhalten in der Mitte zwischen β - und γ -Globulinbande lag. Ähnliche Ergebnisse erzielte STÖCKL (1956) bei Immunisierungsvorgängen an Pferden mit Rotlaufkulturen. Die als T-Globulin bezeichnete Fraktion wurde zuerst als Homolog zum humanen IgA angesehen (WEIR und PORTER, 1966). Spätere Arbeiten bewiesen auf Grund der Aminosäuresequenz und der Antikörperstruktur die enge Verwandtschaft zum IgG. WEIR et al. (1966) schlugen deshalb vor, mit der Bezeichnung IgG(T) die Subklasseneigenschaft zu beschreiben.

Da die elektrophoretische Mobilität des IgG(T) in erster Linie mit der β_2 -Globulinbande übereinstimmt (MONTGOMERY, 1973; MAKIMURA et al., 1975), prüften verschiedene Autoren, inwieweit eine individuelle Konzentrationsänderung dieser Antikörper bei Strongylideninfektionen Aussagekraft besitzt.

In ihren grundlegenden Arbeiten benützten PATTON et al. (1978) als Wirte 3 helminthenfrei aufgezogene Shetland-Ponys, denen zweimal wöchentlich über einen Zeitraum von 8 Wochen je 200 infektiöse Strongylus vulgaris-Larven via Magen-Schlundsonde verabreicht wurden. Immunelektrophoretische Voruntersuchungen, die mit einem spezifischen Antiserum gegen Pferde- γ -Globuline durchgeführt wurden, ergaben ab der fünften Woche p. i. deutlich sichtbare IgG(T)-Präzipitationsbögen, während die Präzipitationslinien bei nicht infizierten Kontrolltieren schwach ausgeprägt blieben. Mit Hilfe der radialen Immunodiffusion konnten die Konzentrationsänderungen des IgG(T) während des chronischen Infektionsgeschehens verfolgt werden. Ein ausgeprägter Anstieg zeichnete sich 5 bis 7 Wochen nach Erhalt der ersten Dosis ab, wobei in der 14. Woche das Zehnfache der Normalwerte erreicht wurde. Der Vergleich mit einer signifikanten Zunahme der β -Globuline im gleichen Zeitabschnitt veranlaßte die Autoren zu der Annahme, daß das IgG(T) den wesentlichsten Anteil zu dieser Serumproteinveränderung beisteuert.

Bei Erstinfektionsversuchen in denen 200 und teilweise auch 700 Str. vulgaris-Drittlarven bei PF-Ponys Verwendung fanden, stellte KENT (1987) fest, daß sowohl die Maximal-IgG(T)-Konzentration als auch das Zeitinter-

vall bis zum Beginn des Konzentrationsanstiegs in Abhängigkeit zur oral verabreichten La III-Dosis steht. So konnte mit der größeren Anzahl infektiöser Larven von der 6. bis 9. Woche ab immunoturbidimetrisch eine deutliche Zunahme der IgG(T)-Werte gemessen werden, die ein Maximum mit 44 und 32 g/l erreichten. Demgegenüber verzögerte sich bei der kleineren Infektionsdosis der Anstieg um 8 bis 9 Wochen und gipfelte nur in einem Wert von 16 g/l. Der Autor beobachtete ein gleichsinniges Verhalten zwischen der Serum- β -Globulinkonzentration und IgG(T)-Konzentration, schränkte jedoch ein, daß die Antwort innerhalb der β_1 -Fraktion niedriger und langsamer ausfällt, als die innerhalb der β_2 -Fraktion. Nach erneuter Infektion mit denselben Larvenmengen (34 Wochen nach Erstexposition) wurde bis auf eine Ausnahme kein Anstieg sowohl des IgG(T) als auch der β -Globulinkonzentration nachgewiesen. Dieses Ergebnis wird auch von PATTON et al. (1978) bestätigt, die mit einer Booster-Dosis von 5.000 Larven arbeiteten.

HERD und KENT (1986) untersuchten IgG(T)-Konzentrationsänderungen bei Ponys, die einem natürlichen Infektionsdruck mit kleinen Strongyliden und Trichostrongylus axei auf unterschiedlich stark kontaminierten Weiden (706 bis 18.486 infektiöse La III/kg Gras) ausgesetzt waren. Während die IgG(T)-Gehalte der adulten Kontrolltiere sich innerhalb der Normgrenzen (4 bis 14 g/l) bewegten und nur ein unwesentlicher Anstieg auf 13,2 g/l vier Wochen nach Exposition mit der höchsten Larvenanzahl zu verzeichnen war, ließen sich bei den Jungtieren die größten serologischen Veränderungen nachweisen. Bei den Jährlingen wurden ohne erkennbare Übereinstimmung zum saisonalen Infektionsmodus markante Erhöhungen im Serum- β -Globulin und im IgG(T)-Wert (bis 68,9 g/l) dokumentiert. Die Autoren vermuteten jedoch auf Grund der Trichostrongylus axei-Exposition einen weit- aus größeren Stimulus, als dies bei einer ständigen Auseinandersetzung mit kleinen Strongyliden der Fall war. Zusätzlich wurde eine gesteigerte Abwehrreaktion auf eine Erstinfektion mit Trichostrongylus axei oder Reinfektion mit Cyathostomen diskutiert.

Ein Bericht von KENT und BLACKMORE (1985) gibt Auskunft über turbidimetrische Analysen der Serum-IgG(T)-Konzentrationen bei Pferden mit unterschiedlichen Haltungsbedingungen und Weidemanagement. Die Ergebnisse lassen eine ausreichend lineare Beziehung zu quantitativ-elektropho-

retisch (Zellulose-Acetatelektrophorese) ermittelten α_2 - und β -Globulin-konzentrationen erkennen, die bei infizierten Pferden gewonnen wurden. Wie die Untersucher weiterhin feststellten, konnten bei aufgestellten Vollblütern sechs Wochen nach einer Immunisierung mit Tetanusvaccine (Prevac T^R, Höchst AG) nur geringe, nicht signifikante Veränderungen in den IgG(T)-Konzentrationen beobachtet werden.

Tab. 1 soll einen Überblick über mittlere IgG(T)-Konzentrationen geben, wie sie von verschiedenen Autoren bei gesunden Pferden bestimmt wurden:

Tab. 1: Mittlere Serum-IgG(T)-Konzentration bei Ponys und Vollblütern (SD = Standardabweichung)

Autor/en	Rasse	Alter	Anzahl	IgG(T) $\pm$ SD
MC GUIRE et al. (1972)	Pony	-	20	8,21 $\pm$ 3,01 g/l
EK (1974)	Pony	4-12 J	20	9,48 $\pm$ 2,09 g/l
EK (1974)	Pony	3 J	16	9,15 $\pm$ 2,78 g/l
EK (1974)	Pony	2 J	15	12,86 $\pm$ 4,32 g/l
ROUSE (1971)	Pony	10 Mo	9	ca. 7,5 g/l
MAKIMURA et al. (1975)	Vollblut	4-15 J	20	7,14 $\pm$ 2,19 g/l
MAKIMURA et al. (1975)	Vollblut	7-12 Mo	15	6,09 $\pm$ 1,33 g/l
ROUSE (1971)	Vollblut	6-10 Mo	9	ca. 1,5 g/l

Die IgG(T)-Referenzwerte wurden von KENT und BLACKMORE (1985) nach der Haltungsform der Pferde bestimmt. Serumanalysen von 98 aufgestellten Vollblutpferden, die im Alter zwischen zwei und neun Jahren bei Flachrennen eingesetzt waren und intensivster Betreuung unterstanden, erbrachten eine mittlere IgG(T)-Konzentration von $4,1 \pm 1,3$ g/l. Demgegenüber wurden bei 91 Vollblutzuchtstuten höhere Werte erzielt ($7,1 \pm 2,4$ g/l). Diese Tiere waren jedoch ausschließlich Weidebedingungen oder einem Zyklus von Aufstallung und Weidebetrieb unterworfen. Die mittlere IgG(T)-Konzentration parasitenfrei aufgezogener Ponyfohlen wird mit $2,6 \pm 0,7$ g/l angegeben. PATTON et al. (1978) dokumentieren einen Bereich, der sich von 2,0 bis 6,0 g/l erstreckt.

Serumuntersuchungen von weidenden Ponys beschreiben eine weitaus größere Variationsbreite in den IgG(T)-Gehalten, wenn die Möglichkeit der permanenten Aufnahme infektiöser Stadien intestinaler Parasiten von der kontaminierten Grasfläche gegeben ist. KENT und BLACKMORE (1985) wiesen bei 31 Kleinpferden, die älter als ein Jahr waren, im Laufe einer Weideperiode IgG(T)-Konzentrationen von 6 bis 28 g/l nach. Durch die regelmäßige anthelminthische Behandlung (Abstände von 4 Wochen) mit Oxfendazol- und Ivermectinpaste konnte der Anteil der Ponys, deren Werte 14 g/l und somit die festgestellte Maximalkonzentration der Vollblüter überschritt, von 58 % im July auf 23 % im Oktober gesenkt werden. Neben der endoziden Wirkung der Anthelminthika wird von den Autoren als Ursache zusätzlich eine durch das trockene Wetter bedingte Verminderung der Anzahl infektiöser Drittlarven auf den Weiden diskutiert. Der Einsatz von Ivermectin in Abständen von 8 Wochen verringerte die IgG(T)-Konzentration einen Monat nach der Behandlung von zehn Jährlingen, die auf natürliche Weise mit kleinen Strongyliden und *T. axei* befallen waren (HERD und KENT, 1986).

Mit Hilfe des Agglutinate^R Strongyle Tests (Virbac) kann die IgG(T)-Konzentration semiquantitativ bestimmt werden. Das Testprinzip beruht auf der Anwendung von Latex-Partikeln zur Sichtbarmachung von Antigen-Antikörperreaktionen und fand zum ersten Mal in der humanmedizinischen Diagnostik Verwendung (SINGER und PLOTZ, 1956). Der für die Interpretation der Ergebnisse festgesetzte "cut off" von 15 g/l basiert im wesentlichen

auf Untersuchungen von KENT und BLACKMORE (1985). Eine starke Überhöhung dieses Wertes innerhalb einer Pferdepopulation deutet darauf hin, daß anthelminthische Maßnahmen eingeleitet werden sollen.

4) Serologische Methoden zum Nachweis von Antikörpern gegen Strongy- liden und Untersuchungen über die Antigenspezifität dieser Parasiten

ENIGK (1951) prüfte das Auftreten von komplementbindenden Antikörpern bei zwei Fohlen nach experimenteller, fraktionierter Invasion von insgesamt 7.805 bzw. 6.602 infektiöser Str. vulgaris-Drittlarven über einen Zeitraum von 42 bzw. 105 Tagen. Als Antigen fand ein Extrakt aus getrockneten weiblichen adulten Palisadenwürmern derselben Spezies Verwendung. In beiden Versuchsabläufen konnten 13 bzw. 15 Tage nach der Erstinfektion stark positive Komplementbindungsreaktionen festgestellt werden. Auch im weiteren Verlauf der Untersuchungen wurden Antikörper in unterschiedlichen Titerabstufungen nachgewiesen. Zusätzliche Testreihen ergaben, daß die Reaktion bei natürlich stark befallenen Pferden deutlicher ausfällt, als dies bei gering infizierten Tieren der Fall war.

Bei in vitro-Versuchen wurde nach BELLO (1985) bereits vor 20 Jahren die Antigenität verschiedener Entwicklungsstadien von Str. vulgaris-Larven durch Präzipitatbildung beobachtet. Viertlarven (La IV), die aus Wurmaneurysmen der kranialen Mesenterialarterie gewonnen wurden, konnten als stärkere Antigene eingestuft werden als infektiöse Drittlarven. So bewirkte ein aus La IV und frühen Fünftlarven (La V) hergestelltes somatisches Extraktantigen eine stark positive Röhrchen-Präzipitationsreaktion im Test gegen Seren von natürlich mit Str. vulgaris infizierten Pferden. Die in das Kulturmedium durch späte La IV und sich daraus entwickelnde La V abgegebenen metabolischen Produkte zeigten unterschiedliche antigene Eigenschaften. So wurden in der Entscheidungsflüssigkeit der Viertlarven stärkere Präzipitationsreaktionen erzielt, als dies später mit Stoffwechselprodukten der Fünftlarven der Fall war.

Zur Bestimmung spezifischer lokaler immunologischer Reaktionen gegen Oberflächenantigene wurden Larven in Medium 199 aufbewahrt, dem

Serum eines Pferdes mit großem Wurmaneurysma zugesetzt war. Während bei den La IV in diesen Kulturen Präzipitate um Körperöffnungen und auf der Oberfläche nachgewiesen wurden, entwickelten sich bei den La V umschriebene Feldpräzipitationen im Medium. Bei Ersatz des Pferdeserums mit Kälberserum bestand keine immunologische Antwort.

ERSHOV (1970) führte die Entwicklung allergischer Erkrankungen im Laufe der ontogenetischen endogenen Entwicklung von *Str. edentatus* und *Str. vulgaris* auf die antigene Potenz der Larven sowie Adultwürmer und deren metabolische Produkte zurück. 10 bis 12 Tage nach Infektion mit *Str. edentatus* konnten spezifische Antikörper im Wirt nachgewiesen werden. Sowohl der Intradermaltest als auch der Agglutinationstest verliefen positiv.

Über den Nachweis und die quantitative Auswertung von Antikörpern gegen Palisadenwürmer liegt ein Bericht von KLEI et al. (1983) vor. Hierbei fand der indirekte Immunofluoreszenzantikörpertest (IFAT) mit einem Antigen aus entscheideten infektiösen *Str. vulgaris*-La III Verwendung. Zusätzlich benützten die Autoren die indirekte Hämagglutination (IHA) zur Detektion von Antikörpern gegen somatische Antigene, deren Grundlage adulte *Str. vulgaris*-Exemplare bildeten. 1 bis 2-jährige Ponys, die unterschiedlichen Haltungsbedingungen unterworfen waren, wurden mit 5.000 *Str. vulgaris*-Drittlarven oral infiziert. Sowohl in der IHA als auch im IFAT hatten die konventionell aufgezogenen Tiere bereits bestehende hohe Antikörpertiter. Ein Anstieg (1 Woche post infectionem) wurde nur im IFAT verzeichnet. Bei unter strongylidentfreien Bedingungen aufgezogenen Ponys wurde ein stärkerer und früher einsetzender Zuwachs der Antikörpertiter im IFAT gegenüber der IHA registriert. Die Verabreichung von 50 La III pro Woche bewirkte eine zeitliche Verzögerung bis ähnlich hohe Titer wie bei der Erstinfektion erreicht wurden. Während bei der IHA keine Zunahme der Antikörpertiter bei einer in der 32. Woche durchgeführten Reinfektion mit 5.000 La III zu verzeichnen war, konnte im IFAT ein Anstieg beobachtet werden. Eindeutige Unterschiede in den Titerabstufungen zwischen Ponys mit Kolikerscheinungen und solchen, die sich nach der Reinfektionsdosis asymptomatisch verhielten, konnten nicht dokumentiert werden.

Seren von ursprünglich wurmfreien Pferden, denen operativ adulte *Str. vulgaris*-Würmer in das Lumen des Zäkums implantiert wurden, zeigten sowohl im IFAT als auch in der IHA keinen Antikörpertiteranstieg. Da der koproskopische Nachweis von Eiern die Anwesenheit lebender Palisadenwürmer über einen Zeitraum von 40 Wochen hinaus belegte, wurde gefolgert, daß eine spezifische Antikörperproduktion im Wirt nur durch larvale Wanderstadien induziert wird.

Obwohl KLEI et al. (1983) in ihren Studien keinen Bezug zwischen den erhöhten Antikörpertitern und vergleichbaren β -Globulinveränderungen fanden, weisen sie doch auf Ähnlichkeiten im Infektionsverlauf bei der IHA und bei β -Globulinen natürlich und experimentell *Str. vulgaris* infizierter Pferde hin. KENT (1987) sieht Übereinstimmungen in der Abfolge von IgG(T)-Konzentrationsveränderungen mit dem IHA-Titerverlauf.

Die Heterogenität der Palisadenwurmantigene, ihre Identifikation und die Kreuzreaktivität stehen im Mittelpunkt der Erforschung immunologischer Abwehr im Wirt und gewinnen auch im Hinblick auf die Entwicklung spezifischer serologischer Testverfahren und Vakzinen an Bedeutung. Zur Ermittlung der Spezifität gegenüber La III-Oberflächenantigenen wurden im IFAT entscheidende infektiöse Drittlarven der großen und kleinen Strongyliden gegen verschiedene Ponyseren getestet (KLEI et al., 1983). Das Fehlen von Antikörpertiter in Immunseren von *Str. vulgaris* mono-infizierten Ponys gegen *Str. edentatus*- und *Str. equinus*-Drittlarven ließ auf eine speziesspezifische Immunantwort schließen.

Konventionell aufgezogene Ponys zeigten unterschiedlich positive Reaktionen gegen alle drei großen Strongylidenarten, wobei Antikörper gegen La III kleiner Strongyliden nicht oder nur in geringem Maß nachweisbar waren. Mit Hilfe des IFAT konnten auch Kreuzreaktionen zwischen somatischem *Str. vulgaris*-Antigen und Drittlarven-Oberflächenantigenen derselben Spezies festgestellt werden. Hierzu wurden homologe Pony-Immunseren gegen *Str. vulgaris* und Seren parasitenfreier Pferde vor dem Testansatz einer Absorption mit löslichem *Str. vulgaris*- oder *Parascaris equorum*-Adultantigen unterzogen. Ebenso wurden Kreuzreaktionen zwischen den anderen großen Strongyliden und ihren Drittlarven dokumentiert, was durch eine dem IFAT vorhergehende Inkubation der La III in

homologen Kaninchen-Anti-Adultwurmseren erreicht wurde. Die Existenz stadienspezifischer Antigene, die auch vom Immunsystem des Wirtes als solche erkannt werden, wird durch Differenzen in den aufeinanderfolgenden Antikörpertitrationen mit dem somatischem Antigen und La III-Oberflächenantigen begründet.

Mit Hilfe der Agargel-Immunodiffusion gegen homologe und heterologe Kaninchenantiseren analysierten WYNNE et al. (1981) unterschiedliche Antigenpräparationen großer Palisadenwürmer und deren Entwicklungsstadien. Zur Untersuchung gelangten lösliche Extrakte, die aus lyophilisierten Homogenaten adulter Str. equinus- und Str. vulgaris-Exemplare hergestellt wurden. Von letzteren wurden noch zusätzlich die Kutikula und Viszera getrennt und ebenfalls zur Antigenaufbereitung benützt. Intraarteriell lebende Larvalstadien von Str. vulgaris (La IV und La V) bildeten die Grundlage für ein somatisches Antigen und waren auch Produzenten von Exkretorisch-Sekretorischen (ES)-Antigenen, die aus Kulturmedien mit jeweils 200 vitalen Larven isoliert werden konnten. Obwohl der Großteil der diagnostizierten Antigene Bestandteil der Extrakte und der ES-Produkte war, konnte ein speziesspezifisches Antigen für Str. vulgaris und Str. equinus ermittelt werden. Die Gewebsextrakte der Larven beinhalten zwei speziesspezifische Antigene, wobei in den ES-Produkten zwei speziesspezifische Antigene und ein stadienspezifisches Antigen nachweisbar waren.

NICHOL und MASTERSON (1987) konzentrierten sich bei der Suche nach immundiagnostisch relevanten Antigenen auf die Körperoberfläche parasitisch lebender Pferdenematoden. Im indirekten Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), bei dem lösliche Oberflächenextrakte von Str. vulgaris oder Parascaris equorum zur Beschichtung der Platten Verwendung fanden, demonstrierten die Autoren eine weitgehende Übereinstimmung im IgG-Bindungsverhalten zwischen Ponyseren, die 8 Wochen nach Monoinfektion mit Str. vulgaris bzw. Parascaris equorum gewonnen wurden. Die gleichen Immenserum verwendete man unter Hinzunahme eines weiteren (28 Wo nach Str. vulgaris Infektion) im Western-blot-Verfahren, wo der hohe Grad der Kreuzreaktivität noch zwischen anderen Parasiten Bestätigung fand. Auf Grund analoger Hauptbandenmuster konnte hier auf

eine Vielzahl gleichartiger Antigene im Oberflächenmaterial von *Str. vulgaris*, *Str. edentatus*, *Parascaris equorum* und bei kleinen Strongyliden geschlossen werden. Um die Detektionsmöglichkeiten speziesspezifischer Antigendeterminanten in Bezug auf *Str. vulgaris* zu optimieren, wurde ein im ELISA kreuzreagierendes Anti-*Str. vulgaris*-Kaninchenserum über Affinitätschromatographie-Säulen mehreren Reinigungsschritten unterworfen. Hierbei bewirkten die an Affi-Gel gekoppelten Oberflächenantigene von *Str. edentatus*, *P. equorum* und der kleinen Strongyliden eine Adsorption kreuzreagierender Antikörper. Die so gewonnenen relativ spezifischen Antikörper konnten im Western-blot-Verfahren mit zwei Banden (Molekulargewicht: 52 und 36 kDa) identifiziert werden, die beide ebenfalls bei 125 J-markierten Oberflächenproteinen von *Str. vulgaris*-Würmern in der Immunopräzipitation mit Kaninchenhyperimmunseren nachweisbar waren.

Da bei Anwendung von Pferdeseren mit *Str. vulgaris*-Monoinfektion eine Immunpräzipitation mit diesen beiden Proteinen nicht stattfand, vermuteten die Autoren, daß sie im natürlichen Wirt nicht immunogen wirken. Weiterhin wird die Möglichkeit einer "Maskierung" dieser Antigene nicht ausgeschlossen. Durch den Nachweis, daß beide Antigene auch auf der Oberfläche larvaler Migrationsstadien zu finden sind und somit auf Grund kutikulärer Umbauprozesse in den Blutstrom abdiffundieren könnten, eröffnet sich die diagnostische Möglichkeit diese zirkulierenden Antigene mit dem sandwich-antigen-assay (antigen-capture-assay) zu erfassen.

III. Eigene Untersuchungen

A) Material und Methoden

1) Tiermaterial, Probenentnahmen, Kotuntersuchung und Therapie

Für die im Rahmen dieser Arbeit vorliegenden serologischen und koproskopischen Untersuchungen, die sich auf natürliche Infektionen mit Strongyliden beziehen, standen 27 Stuten und 29 Fohlen auf unterschiedlichen Weidearealen des Bayer. Haupt- und Landgestütes Schwaiganger zur Verfügung. Das Tiermaterial ließ sich je nach Rassezugehörigkeit und Haltungsform in folgende Gruppen unterteilen:

- a) 17 Bayerische Warmblutstuten und 19 Fohlen, die zusammen mit rassegleichen Pferden alternierend Areale innerhalb der Gemarkungen Grub, Seppenbauer und Jasberg beweideten. Die Aufstallung erfolgte am Abend im Laufstall mit Tiefeinstreu. Zwei Stuten aus dieser Gruppe (Nr. 14 und 19) wurden am 6. 08. 87 in Boxen aufgestallt und auf gestütsnahen Weideflächen bewegt.
- b) 9 Haflingerstuten mit Fohlen bei Fuß, die mit der Herde die Weidegebiete Grub, Seelesau, Jasberg und Schnait begingen und Witterungsschutz im Offenstall mit Tiefstreu fanden.
- c) Eine Süddeutsche Kaltblutstute mit Fohlen, die mit den Warmblütern der erstgenannten Gruppe weidete.

Die Fohlen waren am 9. 09. 87 alle von den Muttertieren abgesetzt und beweideten in eigenen Gruppen die gleichen Areale wie die Stuten. Das Alter der Muttertiere variierte zwischen 4 und 16 Jahren, das der Fohlen belief sich auf 8 Tage bis 13 Wochen bei Beginn der Untersuchungen.

Der Versuchszeitraum erstreckte sich von Mitte April bis Ende November 1987, wobei als Eckdaten der Weideauftrieb am 15. 05. 87 und die Winteraufstallung der Pferde am 26. 11. 87 galten. Um den parasitären Grundstatus der Stuten und Fohlen zu erfassen, wurden 4 Wochen vor Weideaustrieb sowohl koproskopische Untersuchungen durchgeführt als auch Blutproben entnommen. In einer sich anschließenden anthelminthischen Behandlung wurden außer den Kontrollfohlen alle Tiere einbezogen und somit eine

Tab. 2: Terminübersicht zu Probenentnahmen und Therapie, sowie Zeitpunkt von Weidebeginn und Aufstallung

Datum	Management	Probenart	Therapie
13. 04. 1987	Weideaustrieb	Blut - und Kotprobe	Ivomec ^R P
15. 05. 1987			
04. 06. 1987		Blut - und Kotprobe	
02. 07. 1987		Blut - und Kotprobe	
06. 08. 1987		Blut - und Kotprobe	Ivomec ^R P
09. 09. 1987	Aufstallung	Blut - und Kotprobe	
26. 11. 1987		Blut - und Kotprobe	Ivomec ^R P

gleiche parasitologische Ausgangssituation vor Weidebeginn geschaffen. Die Kotproben der Stuten und Fohlen wurden ausschließlich rektal entnommen, um eine Kontamination mit Erdnematoden zu vermeiden. Der Transport erfolgte in Kühlbehältern mit anschließender Lagerung im Kühlraum bei 4 bis 6°C. Der Parasitenstatus des Untersuchungsgutes wurde am darauffolgenden Tag mit der ZnCl₂/NaCl-Flotation erfaßt. Die Ermittlung der EpG (Eizahl pro Gramm Kot) erfolgte mit der nach WETZEL (1951) modifizierten McMaster-Methode. Die gattungs- und artspezifische Identifikation von Magen-Darm-Strongylideneiern auf Grund der Morphologie ist nicht zuverlässig möglich. So war es erforderlich, durch Züchtung der infektiösen Larven III anhand von charakteristischen Strukturmerkmalen eine Differenzierung vorzunehmen.

Für die Blutproben wurde das Venoject-System (Hauptner) verwendet, den Tieren jeweils 10 ml Blut aus der Vena jugularis entnommen und in Glasröhrchen mit Natrium-Heparin als Antikoagulans aufbewahrt. Die Serumherstellung erfolgte im Labor durch Zentrifugation bei 3000 U/min 10 Minuten lang bei 6°C (Hereus-Kühlzentrifuge). Der Überstand wurde vorsichtig abpipettiert und in 1-ml-Portionen bei -20°C tiefgefroren.

Im Anschluß an die erste Therapie am 13. 04. 87 mit Ivomec^R P (MSD AGVET) wurde nach einem 16wöchigen Intervall bei allen Pferden - mit Ausnahme der Kontrollfohlen - eine zweite Behandlung durchgeführt. Dieser Termin lag zeitlich in der Mitte der Weideperiode. Die letzte Routineentwurmung fand bei der Aufstallung statt. Die Pferde erhielten das Antiparasitikum als 1,87 %ige Paste mit der vom Hersteller empfohlenen Dosis von 0,2 mg Ivermectin/kg KGW in die leere Maulhöhle appliziert.

Als Kontrolltiere dienten ein Warmblutfohlen (Nr. 6F) und vier Haflingerfohlen (Nr. 10F/21F/28F/30F) ohne Behandlungen.

2) Serologische Verfahren

a) Antigengewinnung für den ELISA

Als diagnostische Antigene wurden für den Testaufbau relativ schnell aus Pferdekotproben zu gewinnende infektiöse Entwicklungsstadien (Drittlarven von Magen-Darmstrongylien) der Unterfamilie Cyathostominae verwendet. Neben dem Rohextrakt (somatisches Vollantigen) bescheideter La III kamen auch die parasitischen Stoffwechselprodukte entscheideter und in Kulturmedium eingebrachter La III zur Untersuchung. MÜLLER (1953) und EYSKER et al. (1984) fanden letztere als histotrope Entwicklungsform in der Mukosa von Zäkum, ventralem und dorsalem Kolon des Pferdes.

ES-Antigen im Kulturüberstand

Um eine möglichst große Anzahl von Drittlarven gewinnen zu können, wurde ca. 80 g rektal entnommener Kot in 250-ml-Plastikpetrischalen (R.E. Boll) eingebracht, mit dem Holzspatel zur Oberflächenvergrößerung aufgelockert und anschließend mit einer den Dosenrand überragenden Plastikpetrischale abgedeckt. Die so präparierte Einheit wurde vor Sonnenlicht geschützt bei Zimmertemperatur 8 Tage belassen. Kurzes Belüften in den ersten Tagen der Bebrütung stellte sich in Bezug auf die Larvenausbeute und Qualität als vorteilhaft heraus. Nach 12stündiger Anreicherung

wurden die Trichonemalarven in eine Waschlösung (PBS pH 7,2) eingetropft und nach folgendem Schema 3mal gewaschen: 2minütige Zentrifugation bei 1.500 U/min, danach abpipettieren des larvenfreien Überstandes mit nachfolgender Resuspendierung der La III in geringem Volumen mit der Pasteurpipette. Schließlich erneutes Einbringen in das Waschmedium. Die so vorgereinigte konzentrierte Larvensuspension wurde in die nach KLEI et al. (1983) modifizierte Entscheidungsflüssigkeit, die aus einer mit H_2O verdünnten Na-Hypochloritlösung (0,8 % akt. Chlor) bestand (Natriumhypochloritlösung tech., Nr. 5614, Merck). Zur Überführung der Drittlarven in ein 20- μ m-Sieb, das zu zwei Dritteln im Entscheidungsmedium eingetaucht stand, diente eine Pasteurpipette. Nach etwa 15 bis 20 min war der Großteil der Larven aus der äußeren Scheidenhülle geschlüpft und konnte anschließend mit dem Bechersieb in den nach ANNEN et al. (1975) modifizierten Baermannapparat (Abb. 1) eingebracht werden.

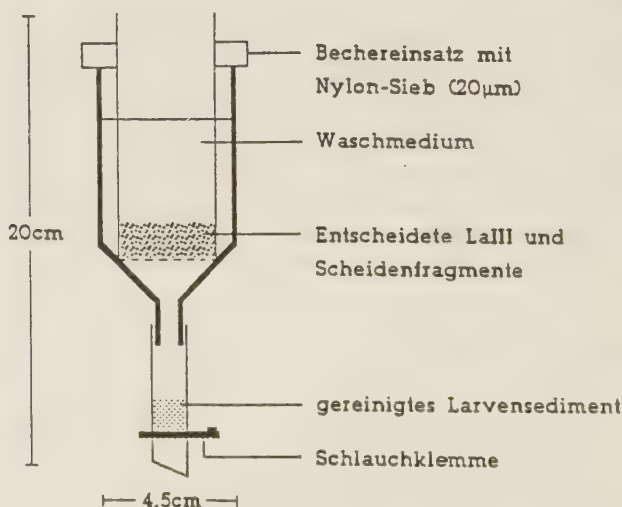


Abb. 1: Modifizierter Baermannapparat zur Reinigung entschiedeter, infektiöser Drittlarven (nach ANNEN et al., 1975)

Das Medium, in das nun die entschiedenen La III auswanderten, bestand aus PBS pH 7,2 mit 3 % Gentamycin (Gentamycin 5, MSD AGVET). Die aus ihren äußeren Scheiden freigewordenen infektiösen Drittlarven zeigten zum größten Teil eine lebhaftige Beweglichkeit und waren in der Lage, auf Grund ihrer Durchschnittsbreite von 20,46 μm im mittleren Körperabschnitt, innerhalb von 12 h bei 20°C Zimmertemperatur das Nygonsieb zu durchwandern. Das hochkonzentrierte Larvensediment konnte durch kurzes Öffnen der Schlauchklemme tropfenweise gewonnen werden. Es enthielt motile Larven und war weitgehend frei von Scheidenfragmenten und anderen Verunreinigungen. Die Ausbeute entsprach etwa 60 % der ursprünglichen Anzahl. Vor jeder erneuten Inbetriebnahme wurde das Nygonsieb in antibiotischer und antimykotischer Lösung (Rapidosept^R, Bayer) gründlich gespült. Nach neuerlichem dreimaligen Waschen in sterilem aqua dest. und anschließendem Waschen in der Kulturlösung konnten die entschiedenen Larven (La III_E) in das Kulturmedium überführt werden.

Kulturmedium und Zusätze

Als Kulturmedium für die entschiedenen Drittlarven diente Eagle's Minimal Essential Medium with Earle's salts mit 0,85 g/l NaHCO₃ ohne L-Glutamin. (MEM-Earle Nr. F0315, Biochrom KG) mit den Zusätzen Gentamycin 100 $\mu\text{g/ml}$ Kulturmedium (Gentamycin 10 mg/ml Nr. A2712, Biochrom KG) und Amphotericin 2,5 mg/l Kulturmedium (Amphotericin B 50 mg, Sqibb). Die entschiedenen Trichonemalarven wurden in einer Konzentration von 500 La III_E/ml Medium in 5 ml Kulturlösung resuspendiert. Als Kulturgefäße dienten sterile 10-ml-Belco-Röhrchen (Belco Biological Glassware), die mit autoklavierten Gummistöpseln luftdicht verschlossen wurden. Es kamen deshalb Glasgefäße zur Verwendung, um eine zu hohe Adsorption von ES-Biomolekülen an γ -bestrahlte Kunststoffbehältnisse und folgerichtig eine zu geringe Ausbeute an Antigen zu umgehen. Die Larvenkulturen wurden 1 Woche bei 37°C im Brutschrank in der Dunkelheit inkubiert und täglich Vitalitätskontrollen durchgeführt. Zur Antigengewinnung gelangten nur diejenigen Kulturen, deren Vitalitätsanteil nach 7 Tagen bei 70 bis 80 % lag. Als lebend wurden die Larven eingestuft, die sich nach 15minütiger Lichtexposition im Auflichtmikroskop (Leitz, Diavert, Lichtstärke: 5) auf Grund ihres negativ phototaktischen Verhaltens schlängelnd fortbewegten

oder ohne lokomotorische Komponente Körperverformungen ausführten. Ausgezählt wurde jeweils ein Repräsentativanteil von 100 Larven. Die Kulturpopulation setzte sich überwiegend aus Drittlarven mit 8 Mitteldarmzellen zusammen. Der Anteil von La III_g mit 16 Mitteldarmzellen lag dabei unter 1 %. Die Kultur wurde als steril angesehen, wenn keinerlei Trübung des Mediums im Beobachtungszeitraum auftrat.

Das Absaugen des Mediums erfolgte mit sterilen Plastikspritzen und anschließender Filtrierung (0,2-µm-Minisart NML Nr. 16534, Sartorius). Die so gewonnene Kulturflüssigkeit wurde in 10-ml-Portionen unter sterilen Bedingungen abgefüllt und bei -20°C tiefgefroren. Nachdem eine Charge von insgesamt 280 ml zur Verfügung stand, erforderte die Trennung niedermolekularer von hochmolekularen Substanzen folgendes Verfahren: Sechsstündige Dialyse in einem Lösungsmittelgemisch aus 2 l PBS pH 7,2 und 4 l aqua dest. bei 4°C. Um das gewünschte Ionenmilieu zu erreichen, wurde nach Austausch des Lösungsmittels nochmal 12 h gegen PBS pH 7,2 bei 4°C dialysiert. Als Trennmedium diente ein Visking^R-Zellophan-schlauch mit einer Porengröße von 1,5 bis 2,0 nm (Nr. 44120, Serva) mit einem sich daraus ergebenden Molekularrückhaltevermögen von 10.000 bis 15.000 Dalton. Um die Antigenkonzentration zu erhöhen, wurde das Dialysatvolumen durch Ultrafiltration um den Faktor 10 auf 28 ml eingengt (PM 10-Membran, Amicon), was eine Anreicherung von Biomolekülen mit einem Molekulargewicht von 10.000 und größer bedeutete. Nach Sterilfiltration durch einen 0,20-µm-Filter erfolgte mit der Methode nach FOLIN und CIOCALTEAU modifiziert nach LOWRY et al. (1951) die Bestimmung des Eiweißgehaltes des ES-Antigengemisches. Um eine längere Haltbarkeit zu gewährleisten, wurde das so gewonnene Medium lyophilisiert und anschließend in Mikrotubes bei -20°C in 1-ml-Portionen aufbewahrt.

Negatives Kontrollantigen: Hierzu dienten larvenfreie Kontrollansätze mit einer den Kulturmedien vergleichbaren Behandlung und Aufbearbeitung.

Somatisches Antigen (Extraktantigen)

Ungefähr 15.000 infektiöse Drittlarven wurden durch die oben beschriebene Kotkultur gewonnen, durch das Baermannverfahren angereichert

und nach 5maligem Waschen in steriler PBS pH 7,2 bei -20°C in Portionen zu 5.000 La III eingefroren. Die Weiterverarbeitung erfolgte nach dreifachem Einfrieren und Auftauen und nochmaligem Waschen im sterilen Puffer. Die Behandlung der Nematoden mit einem Zellhomogenisator (Colora-Messtechnik) führte nach 2 h soweit zu einer Zerstörung, daß in der Suspension mikroskopisch keine intakten Zellstrukturen mehr nachweisbar waren. Um Zellfragmente weiter aufzuschließen, wurde das Homogenat mit dem Sonifier^R-B-15-Gerät (Branson Sonic Power comp.) unter Verwendung eines Standard-Microtip (Nr. 101-148-062) im intermittierenden Betrieb zweimal 30 s mit einer Leistung von 50 Watt beschallt und nachfolgend die Suspension mit PBS pH 7,2 14 h auf dem Magnetrührer bei 4°C extrahiert. Anschließend erfolgte die Zentrifugierung des Extraktes mit einer Sorvall-RC-2B-Zentrifuge (Du Pont Instruments) mit einem SS-34 Rotor über einen Zeitraum von 60 min bei 13.000 U/min (20.000 g) bei 4°C . Der Überstand wurde mit einer Pasteurpipette vorsichtig abgesaugt und die Proteinkonzentration dieses Mischantigens nach Sterilfiltration (0,2- μm -Filter) mit der Lowry-Methode bestimmt und schließlich in Portionen zu einem Milliliter bei -20°C gelagert.

b) Enzym-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Der Mikrotiter-ELISA wurde gemäß der von ENGVALL und PERLMANN (1972) und VOLLER et al. (1978) beschriebenen Methode entwickelt und von mir nach Erkenntnissen von BULLOCK und WALLS (1977) modifiziert. In diesem Testverfahren wird das Antigen durch passive Adsorption an die Polystyrol-Festphase gebunden. Nach Zugabe und Inkubation des Testserums werden auf Grund spezifischer immunologischer Reaktionen Antikörper gebunden. Der Nachweis der Antigen-Antikörperkomplexe erfolgt mit Hilfe enzymmarkierter Antiglobuline, die durch Spaltung eines Substrates eine farbliche Veränderung hervorrufen, so daß die photometrisch zu messende Zunahme der optischen Dichte der Konzentration spezifischer Serumantikörper proportional ist.

Materialien für das Testverfahren

Als Antigen-Adsorptionsmedium diente Carbonat-Bicarbonat-Puffer pH 9,6 (Coating-Puffer):

Na_2CO_3 1,59 g

NaHCO_3 2,93 g

Aqua dest. ad 1000 ml

Zur Serum- und Konjugatverdünnung, sowie als Waschlösung wurde phosphatgepufferte Natriumchloridlösung (PBS) pH 7,2 mit 0,05 % Tween 20 (Merck) hergestellt:

NaCl 8,00 g

KH_2PO_4 0,20 g

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ 1,44 g

KCl 0,20 g

Tween 20 0,50 ml

Aqua dest. ad 1000 ml

Als Antigenträger dienten Mikroelisa^R-Platten mit mittlerer Bindungskapazität und 96 Flachbodenvertiefungen (Nr. 655001, Batch Nr. 192850) der Firma Greiner.

Das Konjugat bestand aus mit Meerrettichperoxidase gekoppeltem Anti-Immunglobulin-G: Anti - Horse - IgG (H+L) (rb) Horseradish Peroxidase Conj. Nr. 612111 (ICN Biomedicals).

Zur Substratherstellung wurde 400 mg 5-Aminosalicylsäure ($\text{C}_7\text{H}_7\text{NO}_3$) in 500 ml Aqua dest. im Wasserbad bei 70°C gelöst. Diese Lösung ist bei Kühlschranktemperatur einen Monat haltbar. Kurz vor Gebrauch ist es erforderlich, sie mit 1N NaOH auf pH 6,0 einzustellen und im Verhältnis 10:1 mit 0,05 %iger H_2O_2 -Lösung zu mischen.

Durchführung des ELISA

Antigenbeschichtung

Das lyophilisierte ES-Antigen wurde mit 1 ml destilliertem Wasser aufgenommen und in Coating-Puffer pH 9,6 so verdünnt, daß die Proteinkonzentration im Testablauf bei den Stutenseren 25 µg/ml und bei den Fohlen

40 µg/ml ergab. Mit dem gleichen Verfahren erfolgte die Einstellung des somatischen Antigens auf 10 µg/ml.

In jede Vertiefung der Reihen 1/2/4/6/8/10 der Mikroelisa^R-Platte wurde 100 µl der Antigenlösung gefüllt, die Parallelreihen 3/5/7/9/11 mit derselben Menge Kontrollantigenverdünnung beschickt und die Platten anschließend 30 s auf dem Mikroschaker (Dynatech) geschüttelt. Die Adsorption der Vollantigene an die Kunststoffvalenzen erfolgte zunächst in der feuchten Kammer (3 h bei 37°C) mit anschließender 16stündiger Lagerung über Nacht bei 4°C im Kühlschrank. Am nächsten Tag wurden die Platten dreimal mit PBS-haltiger Waschlösung jeweils 2 min gespült und nach dem Ausschütten letzte Flüssigkeitsreste durch Ausklopfen (zehnmal) der mit der Oberseite nach unten gekehrten Platte auf ein Baumwolltuch entfernt. Aus Vorversuchen ergab sich eine Arbeitsverdünnung der Seren von 1:32. Die Herstellung der Ausgangsverdünnung von 1:16 erfolgte in U-Form-Platten (Nr. 650101, Greiner), indem zu 150 µl PBS-0,05 % Tween 20 10 µl Serum hinzupipettiert und anschließend auf dem Mikroschaker 30 s geschüttelt wurde. Der Mikrodiluter mit 50 µl Fassungsvermögen diente zur Überführung dieser Serumverdünnungen in die antigenbeschichtete Platte, in der bereits das gleiche Volumen Verdünnungsflüssigkeit pro Kavität vorgelegt war. Nach gründlicher Durchmischung wurden aus jeder Vertiefung 50 µl verworfen. Folgendes Schema beschreibt die Plattenaufteilung:

1. Vertikalreihe (Blankreihe): 50 µl Verdünnungspuffer

2. Vertikalreihe:	Vertiefung A-B: negatives Kontrollserum	1:32
	Vertiefung C-D: positives Kontrollserum	1:32
	Vertiefung E-F: Testserum Nr. 1	1:32
	Vertiefung G-H: Testserum Nr. 2	1:32

Vertikalreihe 4/6/8/10: weitere Testseren jeweils in Doppelbestimmung mit einer Verdünnung von 1:32

Vertikalreihe 3/5/7/9/11: Parallelansätze zur vorhergehenden Reihe mit negativem Kontrollantigen

Die Mikroelisa^R-Platte wurde nach der Serumbeschickung in einer vorgewärmten feuchten Kammer bei 37°C während 60 Minuten inkubiert und danach wiederum dreimal mit Waschlösung sorgfältig gespült und schließlich durch Ausklopfen getrocknet. Die Verdünnung des Anti-IgG-Peroxidase-Konjugates erfolgte im Verhältnis 1:1000 mit PBS-0,05 %

Tween 20 unter anschließender Einpipettierung von 50 µl in jede Kavität einschließlich der Blankreihe, neuerlichem Schütteln (30 s) und wie beim Serum beschrieben, nachfolgender Inkubation in der feuchten Kammer. Nach erneutem Ausschütten, Waschen und Ausklopfen der Platten wurden in alle Vertiefungen 100 µl Substrat einpipettiert und 60 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln stehengelassen, dann wiederum gemischt und schließlich mit einem Titertek^R-Multiskan-Mehrkanalphotometer (Dynatech) bei einer Wellenlänge von 450 nm ausgewertet. Unspezifische Verfärbungen, die sich unabhängig von den Serumproben einstellten, fanden durch das "Blanken" des Photometers in der ersten Vertikalreihe (Ersatz der Testseren durch PBS) Berücksichtigung.

Kontrollen

Parallel zu den Testreihen mit dem ES-Antigen erfolgte die Beschichtung mit einem ultrafiltrierten Dialysat aus larvenfreien Kulturansätzen als sog. "Negativ-Antigen", um unspezifische Bindungsreaktionen von Serumbestandteilen mit Nicht-ES-Komponenten und Kulturzusätzen (Antibiotika, Antimykotika und verschiedenen Aminosäuren) erfassen zu können. Die "Negativ-Antigen"-Kontrolle zu den mit somatischem Antigen beschichteten Vertiefungen im zweiten Untersuchungsverfahren bestand aus dem Extraktlösungsmittel (PBS pH 7,2 steril). Die erste Reihe jedes Testansatzes (Blank-Reihe) enthielt kein Serum und diente somit als Antigenkontrolle. Bereits in Vorversuchen wurden zur Erarbeitung genauer Testparameter unterschiedliche Kontrollansätze durchgeführt, die wie folgt gegliedert waren:

- 1) Antigenkontrolle: ohne Serum
- 2) Serumkontrolle: ohne Antigen
- 3) Konjugatkontrolle: ohne Antigen, ohne Serum
- 4) Substratkontrolle: ohne Antigen, ohne Serum, ohne Konjugat

Alle Extinktionen lagen unter 0,015 und ließen darauf schließen, daß unspezifische Reaktionen der einzelnen Testkomponenten miteinander nur in geringem Maße vorhanden waren. Deshalb wurden die Einzelkontrollen bis auf die oben erwähnte Antigenkontrolle im Routinebetrieb weggelassen.

Negative Serumkontrollen

Als Spender dienten zwei parasitenfrei aufgezogene Pony-Fohlen im Alter von 3¹/₂ Monaten.

Hyperimmunseren (Str. vulgaris)

Diese wurden von zwei monoinfizierten Ponys (4 Jahre und 8 Jahre) gewonnen.

Alle vier Tiere waren im Besitz des Department of Veterinary Science (Louisiana State University Agricultural Center, USA) *

Entwicklung und Problematik des Testverfahrens

Der Nachweis spezifischer Antigen-Antikörperreaktionen in vitro als Grundlage serologischer Testverfahren, beruht auf der Tatsache, daß der durch den Parasitenbefall des Wirtes verursachte Antigenreiz immunologische Abwehrmechanismen induziert. Sie führen im Wirtsorganismus zur Bildung unterschiedlicher Immunglobulinklassen wie IgA, IgE, IgM, IgG, von denen die letztere eingehender untersucht werden soll. Die Immobilisierung des Antigengemisches an die Polystyrenfestphase erfolgte im Rahmen einer checkerboard-Titration mit unterschiedlichsten Plattentypen. Zur Auswahl standen Mikrotiter-Platten der Hersteller Dynatech, Flow, Greiner und Nunc. Aufgrund der größten Extinktionsunterschiede zwischen den positiven und negativen Seren und der stark verminderten Background-Reaktion erwiesen sich die mittelstark-bindenden Platten der Firma Greiner als am besten geeignet. Durch Inkubation der Platten in einer feuchten Edelstahlkammer konnten unterschiedliche elektrostatische Aufladungen des Trägermaterials unterbunden werden, was die gleichmäßige Anlagerung an die Polystyroloberfläche ermöglichte. Unspezifische Verfärbungen zeigten sich somit wesentlich eingeschränkt, und das in Vorversuchen aufgetretene "Eckenphänomen" war zusätzlich eliminiert. Für jede Antigencharge erfolgte die Titration in der Weise, daß eine Beschichtung der Reihen 5/1/9/11 mit aufsteigenden Coatkonzentrationen (ES-Antigen: 6,25 bis 50 µg/ml, somatisches Antigen: 5 bis 50 µg/ml) und der Parallelreihen mit Kontrollantigen stattfand. Ein bekanntes hoch positives Serum und ein Negativ-Serumpool wurden stufenweise um den Faktor 2 (1:16 bis 1:128) verdünnt und so inkubiert, daß jeweils die Kombi-

*Die Seren wurden auf Vermittlung von Herrn Prof. Dr. W. M. FRERICHs dankenswerter Weise von Herrn Prof. Dr. T. R. KLEI zur Verfügung gestellt.

nation einer Antigenkonzentration mit positiver oder negativer Serumverdünnung photometrisch bestimmt werden konnte. Die einheitlichsten Titerabstufungen, sowie die größten Extinktionsdifferenzen zwischen positiven und negativen Proben und zwischen Strongyliden- und Kontroll-Antigen ergaben sich mit einer Proteinabsättigung von 10 µg/ml beim somatischen Antigen und 25 µg/ml (Charge A) bzw. 40 µg/ml (Charge B) beim ES-Antigen. Die Arbeitsverdünnung von 1:32 stellte die spezifische Antikörperaktivität bei Seren mit großem und bei solchen mit kleinem Grenztitel gut dar. Sie konnte durch die Austitration von Probandenserum mit unterschiedlichem Antikörpergehalt ermittelt werden, indem die obigen, sich als optimal erwiesenen Antigenparameter, übernommen wurden. Die Verdünnung der Seren erfolgte hierbei in Zweierschritten mit 1:16 beginnend jeweils bis zur Antikörpernachweisgrenze. Zur Bestimmung der Antikörpertiter wurde die Positiv-Negativ-Grenze auf einen zweifach höheren Extinktionswert als die Mittelwerte der Negativkontrollseren festgelegt.

Daraus ergab sich folgender "cut off":

Somatisches Antigen:		1:32	E = 0,100
ES-Antigen:	25 µg/ml	1:32	E = 0,050
ES-Antigen:	40 µg/ml	1:32	E = 0,065

Dokumentation der Ergebnisse

Zur Bestimmung der spezifischen Antikörperaktivität diente die Absorptionmethode (DE SAVIGNY und VOLLER 1980). Die zu protokollierende Extinktionsdifferenz (Delta-E) berechnete sich durch Subtraktion des arithmetischen Mittels der beiden "Negativ-Kontrollantigene" von dem Mittelwert der zwei Antigenansätze. Zur Standardisierung des ELISA wurden ein hoch positives Serum und ein Negativ-Serum mitgeführt, wobei die Indikatorreaktion 60 min betrug.

c) Agglutinade^R Strongyle Test

Das Latex-Verfahren (Fa. Virbac, Bad Oldeslohe) zum Nachweis von IgG(T) beruht auf folgendem Test-Prinzip: Ein spezifischer Antikörper gegen IgG(T) ist an Latexpartikel gebunden und in einer Pufferlösung suspendiert. Nach Vermischen der sensibilisierten Lösung mit vorverdünntem Vollblut, Serum oder Plasma agglutinieren die Latexteilchen innerhalb eines bestimmten Zeitintervalles, das proportional zur Konzentration von IgG(T) im Blut ist. Dies ermöglicht eine semiquantitative visuelle Bestimmung der Antikörperkonzentration.

Die Anwendung des diagnostischen Schnelltests geschah folgendermaßen:

- a) Von dem Probandenserum wurde mit dem beiliegenden Kapillarröhrchen die Hälfte der bis zur blauen Graduierung reichenden Flüssigkeitssäule aufgenommen.
- b) Nach sofortiger Überführung des Röhrchens in das Verdünnungsmedium (Fläschchen mit weißem Schraubverschluss) war es nötig, den überstehenden Teil der Glaskapillare abzubrechen, um nach Verschluss des Fläschchens die Entnahmemenge optimal zu mischen.
- c) Mit Hilfe einer beiliegenden Pasteur-Pipette wurde ein Tropfen der Mischung entnommen und dieser in die Mitte eines Kreises der Testkarte plaziert.
- d) Das weitere Vorgehen bestand darin, einen Tropfen der zuvor ebenfalls geschüttelten Latex-Lösung auf die aufgetragene Probenverdünnung zu geben und beide Tropfen unter Verwendung eines Spatels unter gleichzeitiger Verteilung über die ganze Oberfläche innerhalb eines Kreises zu mischen.
- e) Nach zweiminütiger Inkubationsdauer wurde die Zeit erneut genommen und die Testkarte mit leicht kreisenden Bewegungen horizontal so bewegt, daß beide Testflüssigkeiten innerhalb des Ringes verblieben.
- f) Als Beurteilungskriterium für die IgG(T)-Konzentration diente der Zeitraum bis zur Bildung eines weißlich strukturierten Randstreifens. Konnte innerhalb des Untersuchungsintervalles von 10 min keinerlei Saum erkannt werden, wurde die Probe als negativ eingestuft.

Auswertung der Testergebnisse:

Agglutinationszeit (min)	Konzentration von IgG(T)	Einteilungssymbolik
1	> 33 g/l	++
1 - 6	15 - 33 g/l	+
> 6 - 10	< 15 g/l	-

Parallel zu den Probandenserien war es erforderlich, eine Positiv- und Negativ-Kontrolle jeweils im roten und grünen Kreis auf der Testkarte mitzuführen. Bei positivem Verlauf muß die Reaktion nach maximal 6 min eingetreten sein. (Latex-Reagenz-Nr. LOT 2652). Alle Testmaterialien lagerten im Kühlschrank bei 4°C. Die Interpretation der Testergebnisse erfolgte anhand des "cut off"-Wertes von 15 g/l.

B) Ergebnisse

1) Kotuntersuchungen

Die erste Übersichtsuntersuchung am 13. 04. 87 (4 Wochen vor Weidebeginn) mit anschließender Larvendifferenzierung ergab, daß alle 27 Stuten mit kleinen Strongyliden befallen waren, die mehrheitlich der Unterfamilie Cyathostominae zugeordnet werden konnten. Bei zwei Tieren (Nr. 2 und Nr. 20) wurde zusätzlich eine patente *Str. vulgaris*-Infektion diagnostiziert, was einer Befallsrate von 7,4 % innerhalb der Stutenpopulation entsprach.

Bei der quantitativen Auswertung konnten bei den 17 Warmblutstuten (Tab. 3) am ersten Untersuchungstermin Eizahlen mit einer Spanne von < 67 bis 1.267 EpG festgestellt werden. Dabei lag jedoch der Anteil der Stuten mit einer Befallsintensität von 200 EpG und darunter bei 70,6 %. Eine weitere koproskopische Kontrolle am 4. 06. (7 Wochen nach Therapie mit Ivomec^R P) ließ eine deutliche Reduktion der infizierten Tiere erkennen, da noch 5 Pferde (29,4 %) Strongylideneier ausschieden, die aber unterhalb der Nachweisgrenze von 67 EpG lagen. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen vergrößerte sich die Anzahl der Palisadenwurmträger am 2. 07. auf 64,7 %, wobei im August, 16 Wochen nach Einsatz des Anthelminthikums, wieder alle Tiere mit kleinen Strongyliden befallen waren. 5 Wochen nach erneutem Einsatz von Ivermectin konnte am 9. 09. nur noch bei einer Stute (Nr. 22) ein positives Ergebnis verzeichnet werden. Dies bedeutete eine 100 %ige Reduktion der Eizahl bei 94 % der Warmblutstuten. Die Abschlußuntersuchung (28. Weidewoche) erbrachte nur positive Kotproben mit Werten zwischen < 67 bis 467 EpG, bei 94,1 % der Probanden Werte von < 200 EpG.

In Bezug auf die Eiausscheidung der 9 Haflingerstuten (Tab. 4) wurden am 13. 04. Werte zwischen 67 bis 2.133 EpG ermittelt, woraus ein Durchschnitt von 889 EpG resultierte. Die qualitative und quantitative Kotuntersuchung am 4. 06., 7 Wochen nach der Behandlung, bestätigte eine Reduktion der Wurmbürde. So wurden bei 5 Tieren (55,6 %) in der Flotation noch Strongylideneier festgestellt, die jedoch nur bei einer Stute (Nr. 30)

Tab. 3: Strongylideneizahlen (EpG) der Warmblutstuten (* - Behandlungstermin, Ø - negative Kotprobe, O - EpG < 67, Zahlen in Klammern = Wochen auf der Weide)

Nr	Alter	13. 04.* (-)	04. 06. (3)	02. 07. (7)	06. 08.* (12)	09. 09. (17)	26. 11.* (28)
1	5 J	133	Ø	O	67	Ø	133
5	9 J	133	O	O	O	Ø	O
6	6 J	67	Ø	67	333	Ø	67
11	14 J	O	O	Ø	O	Ø	133
12	11 J	267	Ø	O	267	Ø	467
13	5 J	267	O	O	133	Ø	O
14	8 J	O	Ø	Ø	O	Ø	O
15	8 J	67	O	O	67	Ø	O
16	9 J	1267	Ø	267	1600	Ø	133
17	10 J	O	Ø	O	O	Ø	O
18	6 J	800	Ø	133	133	Ø	133
19	9 J	67	Ø	Ø	O	Ø	O
20	9 J	467	Ø	O	67	Ø	200
21	9 J	133	Ø	Ø	O	Ø	67
22	5 J	67	Ø	Ø	800	O	O
25	5 J	133	Ø	Ø	267	Ø	67
26	5 J	200	O	O	67	Ø	67

Tab. 4: Strongylideneizahlen (EpG) der Haflingerstuten (* - Behandlungstermin, Ø - negative Kotprobe, O - EpG < 67, Zahlen in Klammern = Wochen auf der Weide)

Nr	Alter	13. 04.* (-)	04. 06. (3)	02. 07. (7)	06. 08.* (12)	09. 09. (17)	26. 11.* (28)
2	5 J	1600	O	267	933	Ø	533
3	4 J	467	Ø	O	67	Ø	133
4	16 J	67	Ø	Ø	67	Ø	267
7	7 J	667	O	933	933	Ø	333
10	11 J	667	O	333	1600	O	200
27	8 J	533	Ø	133	267	Ø	333
28	16 J	400	Ø	67	133	Ø	133
29	5 J	2133	O	533	1133	Ø	400
30	5 J	1467	133	1667	1133	Ø	933

Tab. 5: Strongylideneizahlen (EpG) von Kaltblutstute und -fohlen (8F) (* - Behandlungstermin, Ø - negative Kotprobe, O - EpG < 67, Zahlen in Klammern = Wochen auf der Weide)

Nr	Alter	13. 04.* (-)	04. 06. (3)	02. 07. (7)	06. 08.* (12)	09. 09. (17)	26. 11.* (28)
8	6 J	800	Ø	Ø	67	Ø	467
8F	12 Wo	O	Ø	Ø	133	O	1133

die Nachweisgrenze von 67 EpG überschritten. Bei allen Stuten konnten am 6. 08. wieder Eier kleiner Strongyliden mit durchschnittlich 669 EpG (67 bis 1.600) nachgewiesen werden. Der zweite Einsatz von Ivomec^R P führte erneut nach 5 Wochen zu einem starken Rückgang der Eiausscheidung, denn am 9. 09. wurde bei 88,9 % der Stuten eine völlige Eizahlenreduktion festgestellt. Die Reinfektion mit kleinen Palisadenwürmern zeigte sich bei der Probenanalyse am 26. 11. deutlich mit einem Durchschnittswert von 363 EpG (133 bis 933). Dies entspricht noch 40,8 % der zu Beginn des Versuchs ermittelten Eizahlen.

Die koproskopische Erstuntersuchung der Fohlen wurde parallel zu den Muttertieren ebenfalls 4 Wochen vor Weideauftrieb am 13. 04. vorgenommen. Dabei konnte festgestellt werden, daß 89,7 % der Kotproben der 29 Jungtiere negativ waren. Bei drei Fohlen (Nr. 8F/13F/20F) wurden Strongylideneier nachgewiesen. Die quantitative Auswertung aller am 4. 06. bis einschließlich am 2. 07. entnommenen Kotproben ergab, daß die Nachweisgrenze von 67 EpG von keinem der Fohlen erreicht wurde, was auch für die unbehandelten Kontrollen Bestätigung fand (vgl. Tab. 5 - 8). Bei den Warmblutfohlen (Tab. 6) vergrößerte sich die Anzahl positiver Tiere von 6 (33,3 %) am 4. 06. auf 12 (66,7 %) am 2. 07. Der markante Anstieg der Eiausscheidung wurde, wie auch bei den anderen Gruppen, am 6. 08. registriert. Hier zeigte die Untersuchung der 18 Jungtiere im Durchschnitt eine EpG von 1.274 (67 bis 3.533). 5 Wochen nach Anwendung des Anthelminthikums im August konnten 88,9 % der Kotproben als negativ bewertet werden. Am letzten Untersuchungstermin wurde wieder ein Mittelwert von 526 EpG (200 bis 1000) diagnostiziert, was 41,3 % des EpG-Durchschnittes vom 6.08. ausmachte.

Tabelle 7 vermittelt einen Überblick über die Ergebnisse der Haflingerfohlen. Am 2. 07. konnten bei allen Jungtieren Strongylideneier nachgewiesen werden. Ein Mittelwert von 387 EpG (67 bis 933) am 6. 08. wurde am Versuchsende noch von 1.747 EpG (533 bis 2.933) übertroffen. Eine 100 %ige Eielimination war am 9. 09. bei 4 der 5 Tiere festzustellen. Die Kontrollfohlen (Tab. 8) waren alle am 2. 07. mit kleinen Palisadenwürmern befallen. Das weitere Infektionsgeschehen repräsentieren fol-

gende Mittelwerte: 467 EpG (133 bis 1.133) am 6. 08., 280 EpG (133 bis 600) am 9. 09. und 920 EpG (467 bis 1.400) am 26. 11. Alle Fohlen konnten am 6. 08. auch als Träger von *Parascaris equorum* identifiziert werden. Die Ei-ausscheidung lag zwischen 67 und 1.133 EpG.

Tab. 6: Strongylideneizahlen (EpG) der Warmblutfohlen (* - Behandlungstermin, Ø = negative Kotprobe, O = EpG < 67, Zahlen in Klammern = Wochen auf der Weide)

Nr	Alter	13. 04.* (-)	04. 06. (3)	02. 07. (7)	06. 08.* (12)	09. 09. (17)	26. 11.* (28)
1F	3 Wo	Ø	O	O	67	O	600
5F	4 Wo	Ø	O	Ø	1467	Ø	467
11F	14 Wo	Ø	Ø	Ø	1133	Ø	600
12F	10 Wo	Ø	Ø	O	1933	Ø	200
13F	11 Wo	O	Ø	Ø	2067	O	200
14F	7 Wo	Ø	Ø	O	867	Ø	800
15F	13 Wo	Ø	Ø	Ø	2200	Ø	333
16F	6 Wo	Ø	O	O	533	Ø	667
17F	4 Wo	Ø	Ø	Ø	1133	Ø	267
18F	10 Wo	Ø	Ø	O	3533	Ø	933
19F	5 Wo	Ø	O	O	400	Ø	667
20F	4 Wo	O	Ø	O	1867	Ø	333
21F	7 Wo	Ø	Ø	Ø	867	Ø	467
22F	5 Wo	Ø	Ø	O	1067	Ø	1000
23F	9 Wo	Ø	Ø	O	400	Ø	667
24F	7 Wo	Ø	Ø	O	400	Ø	200
25F	8 Wo	Ø	O	O	2467	Ø	667
26F	10 Wo	Ø	O	O	533	Ø	400

Tab. 7: Strongylideneizahlen (EpG) der Haflingerfohlen (* - Behandlungstermin, Ø - negative Kotprobe, O - EpG < 67, Zahlen in Klammern - Wochen auf der Weide)

Nr	Alter	13. 04. ^x (-)	04. 06. (3)	02. 07. (7)	06. 08. ^x (12)	09. 09. (17)	26. 11. ^x (28)
2F	3 Wo	Ø	Ø	O	67	Ø	533
3F	1 Wo	Ø	O	O	933	Ø	1667
4F	2 Wo	Ø	Ø	O	133	Ø	1400
7F	3 Wo	Ø	Ø	O	267	Ø	2200
29F	5 Wo	Ø	Ø	O	533	O	2933

Tab. 8: Strongylideneizahlen (EpG) der Kontrollfohlen (* - Behandlungstermin, Ø - negative Kotprobe, O - EpG < 67, Zahlen in Klammern - Wochen auf der Weide)

Nr	Alter	13. 04. ^x (-)	04. 06. (3)	02. 07. (7)	06. 08. ^x (12)	09. 09. (17)	26. 11. ^x (28)
6F	1 Wo	Ø	O	O	1333	600	467
10F	2 Wo	Ø	Ø	O	267	133	1400
27F	10 Wo	Ø	Ø	O	133	133	1067
28F	5 Wo	Ø	O	O	133	267	533
30F	5 Wo	Ø	Ø	O	467	267	1133

2) ELISA und Agglutinationstest

Bei den Warmblutfohlen (Abb. 2) zeigte sich ab dem 4. 06. 87 (3 Wochen nach Weideaustrieb) mit dem somatischen Extraktantigen (SOM AG) eine rasche Zunahme in den Extinktionswerten, wobei das Maximum am 9. 09. (17. Weidewoche) mit 0,553 erreicht wurde. Dieser Wert lag um den Faktor 6 höher als die festgestellte spezifische IgG-Antikörperaktivität (0,091) zu Beginn des Versuchs. Nach einem Zeitraum von 11 Wochen kam es nur zu einer geringen Reduktion auf einen ELISA-Wert von 0,525. Die Excretory-Secretory-Antigen-Aktivitätskurve blieb nach steilem Abfall zwischen dem 13. 04. und 4. 06. über ein Zeitintervall von 14 Wochen auf relativ niedrigem Niveau (Werte zwischen 0,103 und 0,149), um am 26. 11. mit 0,296 einen etwa doppelt so hohen Mittelwert einzunehmen.

Die mit dem SOM AG erstellten Extinktionswerte bei den Haflingerfohlen (Abb. 3) stiegen 3 Wochen nach Weideaustrieb deutlich vom Basiswert 0,158 auf 0,488 (17. Weidewoche) an. Der Maximalwert wurde am 26. 11. mit 0,556 gemessen, er lag somit um 0,407 höher, als der Ausgangswert am 13. 04. (0,149). Der Verlauf der spezifischen IgG-Antikörperaktivität bei dem ES AG ließ eine ausgeprägte Verringerung der ELISA-Werte bis zur 17. Weidewoche erkennen, wo auch das Minimum mit 0,046 berechnet wurde. Dieser Wert lag im Meßbereich der parasitenfreien Kontrollfohlen. Am 26. 11. wurde mit 0,140 ein höheres Ergebnis erzielt.

Der spezifische IgG-Aktivitätskurvenverlauf beschrieb bei den nicht behandelten Kontrollfohlen (Abb. 4) unter Anwendung des somatischen Antigens im Untersuchungszeitraum einen deutlichen Aufwärtstrend. So konnte ein signifikanter Anstieg ab dem 4. 06. verzeichnet werden. Das Maximum (0,577) wurde in der 28. Weidewoche am 26. 11. festgestellt. Zwischen diesem Wert und dem Ausgangswert lag eine Differenz von 0,470. Die Extinktionswerte bei dem ES AG verringerten sich bis zum 9. 09., wo der kleinste Wert mit 0,042 bestimmt wurde. 11 Wochen (28. Weidewoche) nach diesem Zeitpunkt konnte ein um den Faktor 5,5 höherer ELISA-Wert (0,234) errechnet werden.

Innerhalb des Versuchszeitraumes schwankten die Extinktionswerte (SOM AG) bei den Warmblutstuten (Abb. 5) zwischen 0,581 und 0,714, während mit dem ES AG ein Bereich von 0,253 bis 0,403 abgedeckt wurde. Auch die Haflingerstuten (Abb. 6) zeigten nur eine geringe Variationsbreite der ELISA-Werte: SOM AG: 0,612 bis 0,742 und ES AG: 0,292 bis 0,412.

Die spezifische IgG-Antikörperaktivität zweier künstlich mit *Str. vulgaris* monoinfizierter Pferde wurde im Histogramm (Abb. 7) den Versuchsgruppen Warmblut und Haflinger gegenübergestellt. Bei Verwendung des somatischen Antigens lagen die Werte der monoinfizierten Tiere mit 0,520 und 0,578 zwischen den Ergebnissen von Nr. 20 (0,419) und Nr. 2 (0,712) und zwar beides Stuten, bei denen neben der natürlichen Infektion kleiner Strongyliden zusätzlich eine patente *Str. vulgaris*-Infektion diagnostiziert wurde. Die Testwerte der anderen Probanden (patente Infektion kleiner Strongyliden) bewegten sich von 0,337 bis 0,832. Die mit dem ES AG berechneten ELISA-Werte beschrieben bei den monoinfizierten Tieren einen Bereich unterhalb bzw. geringfügig oberhalb der "cut off"-Grenze, während alle anderen Versuchspferde um mindestens 0,050 darüber lagen.

In den Abbildungen 2 bis 6 wird die Kinetik der spezifischen Anti-körperaktivität im ELISA vor und während der Weideperiode unter Verwendung von somatischem Extraktantigen (SOM AG) und Excretory-Secretory-Antigen (ES AG) aus infektiösen Drittlarven kleiner Strongy- liden (Cyathostominae) graphisch wiedergegeben. (Dargestellt sind der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung)

Legende: — SOM AG --- ES AG
↓ Behandlungstermin
▲ Weidebeginn

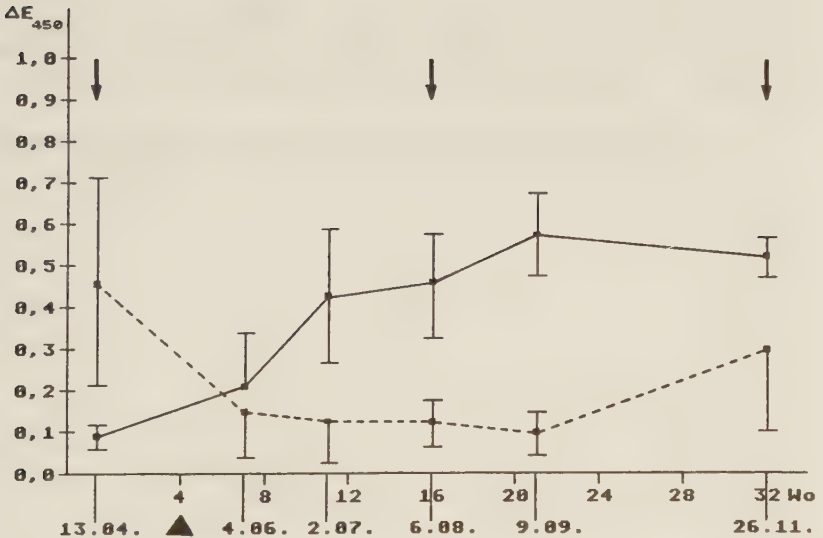


Abb. 2: Warmblutfohlen (n=18) unter Verwendung von SOM AG und ES AG

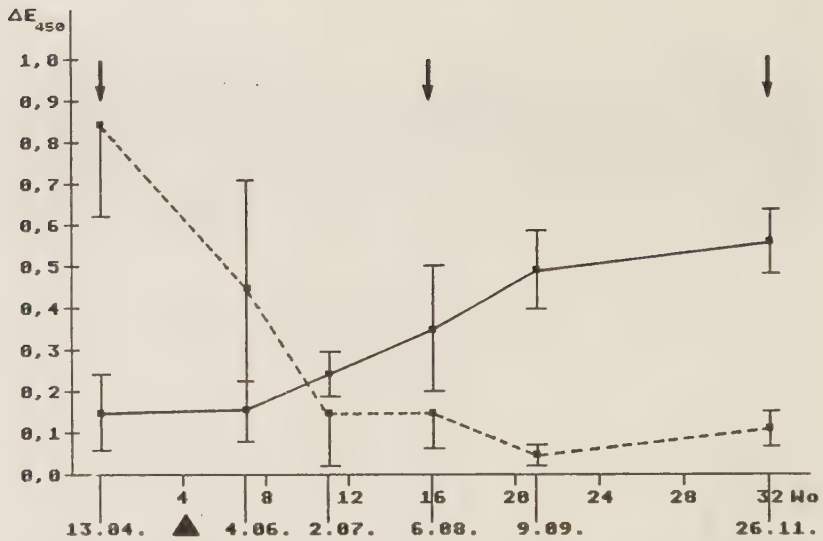


Abb. 3: Hafilingerfohlen (n=5) unter Verwendung von SOM AG und ES AG

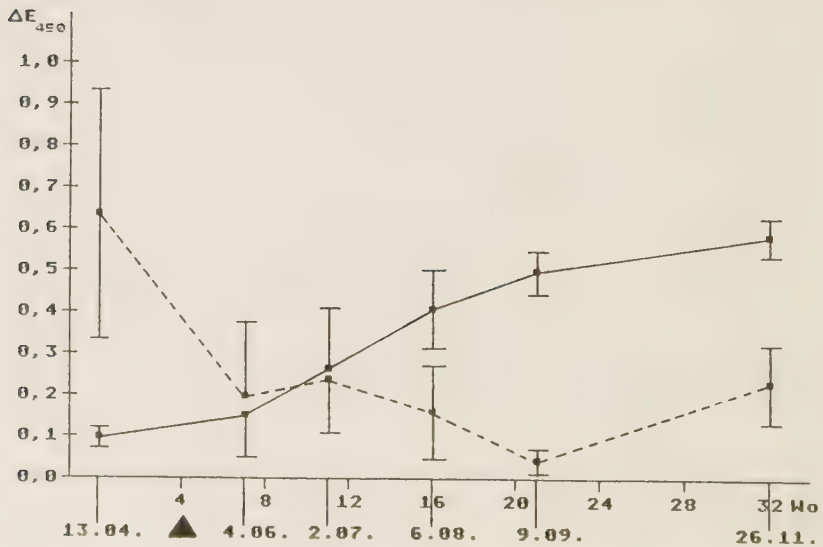


Abb. 4: Unbehandelte Kontrollfohlen (n=5) unter Verwendung von SOM AG und ES AG

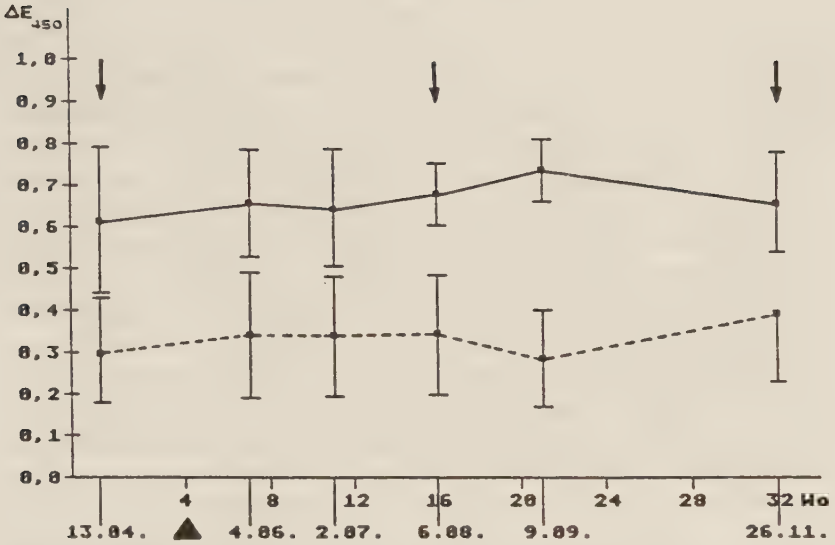


Abb. 5: Haflingerstuten (n=9) unter Verwendung von SOM AG und ES AG

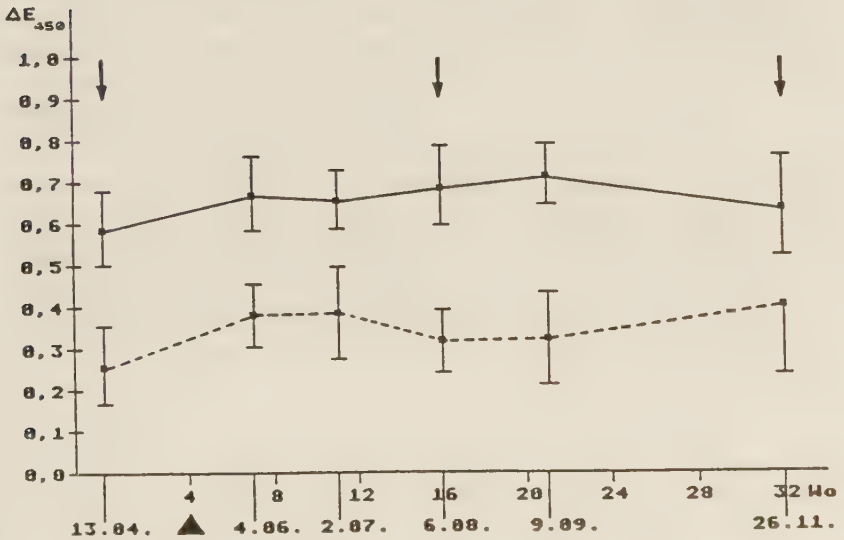


Abb. 6: Warmblutstuten (n=17) unter Verwendung von SOM AG und ES AG

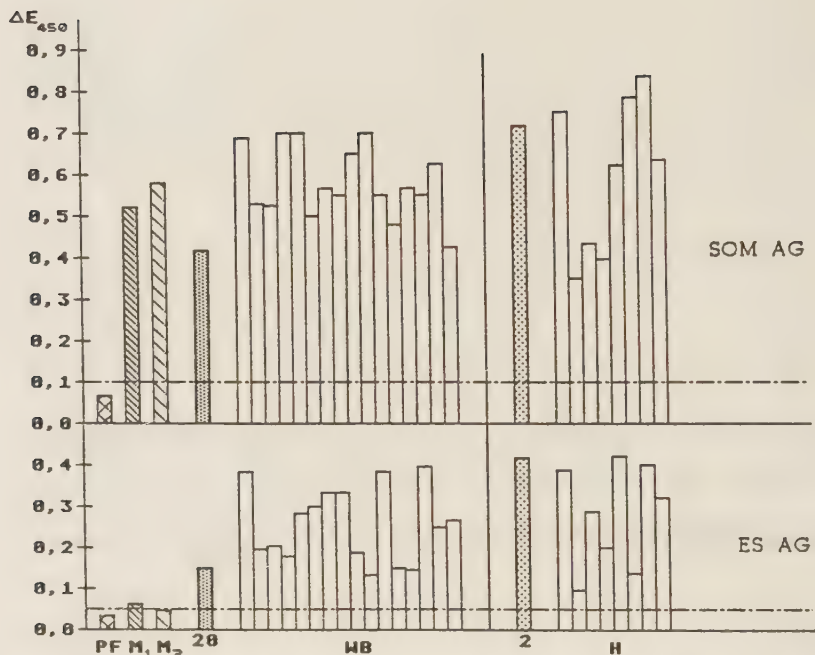


Abb. 7: Vergleich der individuellen ELISA-Werte von Warmblut- und Haflingerstuten am 13. 04. mit den Werten künstlich *Str. vulgaris* monoinfizierter Pferde und parasitenfreier Kontrollfohlen

PF: Parasitenfrei aufgezogenes Fohlen. Alter: 3 1/2 Mo

M₁: *Str. vulgaris*-monoinfiziertes Pony, Alter: 4J

M₂: *Str. vulgaris*-monoinfiziertes Pony, Alter: 7J

WB: Warmblutstuten mit patenter Infektion kleiner Strongyliden

H: Haflingerstuten mit patenter Infektion kleiner Strongyliden

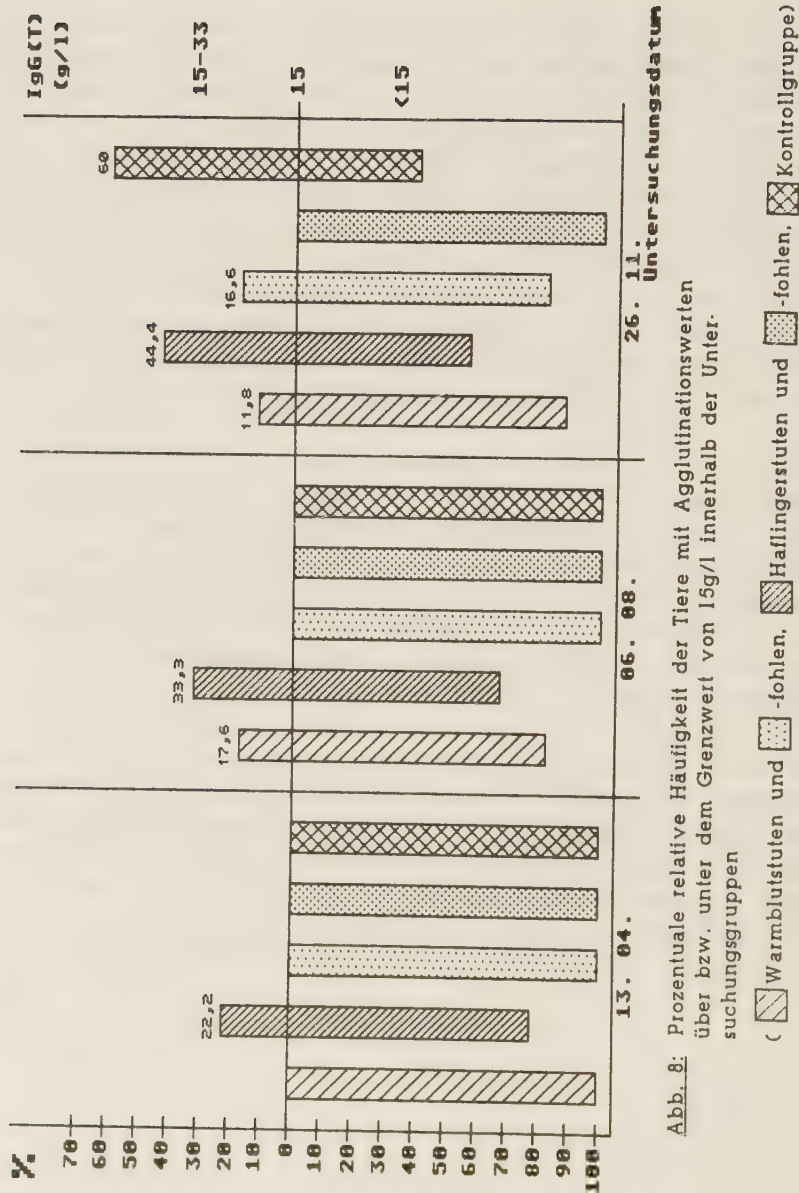
Nr. 20: Warmblutstute mit patenter Mischinfektion (*Str. vulgaris* und kleine Strongyliden)

Nr. 2: Haflingerstute mit patenter Mischinfektion (*Str. vulgaris* und kleine Strongyliden)

Die semiquantitative Bestimmung der IgG(T)-Konzentration mit Hilfe des Agglutinationstests erfolgte bei allen Tieren an den Behandlungsterminen zu Beginn, in der Mitte und am Ende des Untersuchungszeitraumes. Wie aus der Abbildung 8 hervorgeht, stellten die Haflingerstuten am 13. 04. und 6. 08. 87 den höchsten Anteil (22,2 % und 33,3 %) der Tiere mit einer IgG(T)-Konzentration über dem Grenzwert von 15 g/l. Während alle Jungtiere an den ersten beiden Terminen unterhalb des Schwellenwertes blieben, konnte bei 17,6 % der Warmblutstuten am 6. 08. ein positives Ergebnis ermittelt werden. Die größten Relationsverschiebungen traten am 26. 11. auf. Zu diesem Zeitpunkt erreichten 44,4 % der Haflinger- und 11,8 % der Warmblutstuten Werte über 15 g/l. Bei den Jungtieren erwiesen sich 16,6 % der Warmblutfohlen und 60 % der Kontrollfohlen als positiv.

5 Wochen nach Therapie mit Ivermectin (Tab. 9) konnte bei den Stuten, deren Werte am 6. 08. zwischen 15 g/l und 33 g/l lagen, bis auf eine Ausnahme (Nr. 26) eine Reduktion der IgG(T)-Konzentration ermittelt werden. Während das IgG(T) der Haflingerstuten (Nr. 29/30) 16 Wochen nach Behandlung wieder den Bereich über dem "cut off" einnahm, blieben bei den Warmblutstuten (Nr. 5/22) die Werte darunter. Nur das ältere Tier der beiden Str. vulgaris monoinfizierten Ponys verzeichnete einen Anstieg über 15 g/l.

Tabelle 10 vermittelt einen Überblick der im Agglutinationstest positiven Probanden. Demnach erreichten nur zwei Haflingerstuten (Nr. 29/30) bei allen drei Untersuchungen Werte über 15 g/l. Die EpG (kl. Strongyliden) variierte bei den positiven Tieren dieser Gruppe zwischen 267 und 2.133, wobei diejenigen der Warmblutstuten nur EpG < 67 bis 800 aufwiesen. Unter den Jungtieren (alle am 26. 11. positiv) wurden EpG zwischen 533 und 1067 (Kontrollen) und 200 bis 667 (Warmblutfohlen) festgestellt.



Tab. 9: Veränderungen der EpG (kl. Strongyliden) und der aus dem Agglutinationszeitpunkt errechneten IgG(T)-Konzentration nach der Therapie mit Ivomec^{RP} (am 6. 08. 87)
(Ø - negative Kotprobe, O - EpG < 67)

Gruppe	Nr.	06. 08.	09. 09.	26. 11.	Parameter
Warmblut	5	O	Ø	O	EpG
		15 - 33	<15	<15	IgG(T) (g/l)
		5/50	8/00	10/00	Aggl.-Zeit (min/s)
	22	800	O	O	EpG
		15 - 33	<15	<15	IgG(T) (g/l)
		5/45	8/30	8/25	Aggl.-Zeit (min/s)
	26	67	Ø	67	EpG
		15 - 33	15 - 33	15 - 33	IgG(T) (g/l)
		3/20	4/00	5/15	Aggl.-Zeit (min/s)
Haflinger	29	1133	Ø	400	EpG
		15 - 33	<15	15 - 33	IgG(T) (g/l)
		3/45	9/00	3/25	Aggl.-Zeit (min/s)
	30	1133	Ø	933	EpG
		15 - 33	<15	15 - 33	IgG(T) (g/l)
		4/45	7/00	6/00	Aggl.-Zeit (min/s)

Tab. 10: Positive Reagenten im Agglutinate^R Strongyle Test und EpG (Kleine Strongyliden)
(+ - 15-33g/l, - - <15g/l, Ø - negative Kotprobe, O - EpG <67)

Gruppe	Nr.	13. 04.	6. 08.	26. 11.	Methode
Warmblut- Stuten	5	133 -	O +	O -	EpG Agglutination
	16	1267 -	1600 -	133 +	EpG Agglutination
	22	67 -	800 +	O -	EpG Agglutination
	26	200 -	67 +	67 -	EpG Agglutination
Warmblut- Fohlen	5F	Ø -	1466 -	467 +	EpG Agglutination
	16F	Ø -	533 -	667 +	EpG Agglutination
	24F	Ø -	400 -	200 +	EpG Agglutination
Haflinger- Stuten	3	467 -	67 -	133 +	EpG Agglutination
	4	67 -	67 -	267 +	EpG Agglutination
	27	533 -	267 +	333 -	EpG Agglutination
	29	2133 +	1133 +	400 +	EpG Agglutination
	30	1467 +	1133 +	933 +	EpG Agglutination
Kontroll- Fohlen	27F	Ø -	133 -	1067 +	EpG Agglutination
	28F	Ø -	133 -	533 +	EpG Agglutination
	30F	Ø -	467 -	1133 +	EpG Agglutination

IV. Besprechung der Ergebnisse

1) Kotuntersuchungen

Wie aus den Übersichtsuntersuchungen am 13. 04. 87 ermittelt werden konnte, stellen unter natürlichen Infektionsbedingungen die kleinen Strongyliden mit einer Befallsextenstität von 100 % innerhalb der Stutenpopulation die vorherrschende Endoparasitenspezies dar. Dies entspricht früheren Resultaten, die ebenfalls im Gestüt erstellt wurden (JONAS et al., 1972, ANDERSON und HASSLINGER, 1982). 7,4 % der Adulttiere waren mit großen Palisadenwürmern (*Str. vulgaris*) befallen, was sich in die von HASSLINGER (1986) beurteilte heutige Gesamtsituation einfügt, da auch hier die Grenze von 10 % nicht überschritten wurde. Als Ursache für die relativ niedrige Prävalenz wird der Gebrauch von Benzimidazolen in den letzten Jahren angeführt, die gegen große Strongyliden eine ausreichend gute, jedoch bei kleinen Palisadenwürmern eine durch Resistenzen verursachte verringerte Wirksamkeit besitzen (HASSLINGER, 1985, HERD, 1986). 89,7 % der Kotproben der Fohlen erwiesen sich am 13. 04. als negativ. Die Erfassung von Strongylideneiern bei Fohlen Nr. 20 kann unter Berücksichtigung des Alters (4 Wo) und der minimalen Präpatenzzeit von 5 Wochen nur als das Resultat von Koprophagie gewertet werden (OGBOURNE, 1978), während bei den anderen positiven Jungtieren (Alter: 11 und 12 Wo) eine patente Stallinfektion bereits möglich ist.

Die prophylaktische Therapie mit Ivermectin 4 Wochen vor Weideauftrieb reduzierte die Eiausscheidung der Warmblutstuten innerhalb eines Zeitraumes von 77 Tagen, so daß bis zur 7. Weidewoche eine Kontamination der Grasfläche mit Strongylideneiern wesentlich eingeschränkt war. Vergleichbare Angaben findet man hierzu bei HERD et al. (1985) und SCHATZMANN et al. (1986), die eine Suppression der EpG mit 8 bzw. 10 Wochen unter natürlichen Infektionsbedingungen feststellten. Auffällig war, daß die meisten Haflingerstuten wesentlich früher (2. 07.) wieder höhere EpG-Werte aufwiesen, als die zum gleichen Zeitpunkt behandelten Warmblutstuten. Dies kann sowohl unter dem Aspekt einer verstärkten Reinfektion durch hohe Pferdedichte, als auch durch eine unvollständige

Wirksamkeit von Ivermectin gegenüber histotropen, hypobiotischen Stadien gesehen werden. Die Verringerung der im Kot der Mutterstuten ausgeschiedenen Strongylideneier, die im Frühjahr die Hauptinfektionsquelle für die Fohlen darstellen (DUNCAN, 1974), sowie der stark verminderte infektiöse Larvenanteil auf den Weidearealen zum gleichen Zeitpunkt (HASSLINGER, 1981) wirken sich positiv auf eine Reduktion des Infektionsgeschehens innerhalb der Jungtiergruppen aus. Wie die Ergebnisse der Kontrollgruppe veranschaulichen, kommt es im ersten Viertel der Weideperiode nur zu einer geringen fäkalen Eiausscheidung. Die zweite Entwurmung Anfang August bestätigt die gute anthelminthische Wirksamkeit von Ivermectin. So fanden sich 5 Wochen nach der Therapie nur bei 6 % der Warmblut- und 11 % der Haflingerstuten wenige Strongylideneier in der Flotation, was mit den von SLOCOMBE und COTE (1984) ermittelten Werten korreliert.

Bis auf drei Tiere war auch bei den Fohlen eine 100 %ige Verringerung der Eizahlen zum selben Zeitpunkt zu verzeichnen. BAUER et al. (1986) fanden 6 Wochen nach Einsatz der oralen Pastenformulierung dazu vergleichbare Ergebnisse. Eine höhere Anfälligkeit der Jungtiere gegenüber natürlichen Infektionen und Reinfektionen belegen die über den Werten der Adulttiere liegenden, durchschnittlichen EpG der Warmblutfohlen am 6. 08. und der Haflingerfohlen am 26. 11. Besonders deutlich ist dies bei letzteren zu erkennen, wobei zu Versuchsende (16 Wochen nach Anthelminthikaeinsatz) eine höhere mittlere EpG (1.747) als vor der Therapie (387) erreicht wurde. Eine weit geringer ausgebildete Immunität der Jungtiere und die damit verbundene größere Anzahl von histotropen Stadien, die sich aufgrund ihrer Lokalisation einer Behandlung entziehen (HERD, 1986), kann ebenfalls als Erklärung herangezogen werden. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Kontrollfohlen ist ein Behandlungsintervall von 16 Wochen in der ersten Hälfte der Weideperiode durchaus zu tolerieren. Anschließend würde eine Verkürzung des Zeitraumes zwischen der Therapie die Kontamination der Weide noch weiter reduzieren helfen.

2) ELISA und Agglutinationstest

Das mit dem somatischen Antigen im ELISA erstellte spezifische IgG-Aktivitätsmuster zeigte in erster Linie bei den Fohlen einen Aufwärtstrend, der sich innerhalb der Weideperiode besonders deutlich ab dem 2. 07. (7. Woche auf der Weide) abzeichnete. Der größte Anstieg der ELISA-Werte bewegte sich in einem Zeitabschnitt von 14 Wochen, in dem die Jungtiere am 9. 09. (17. Woche auf der Weide) Werte erreichten, die etwa um 0,2 geringer waren, als diejenigen der Adulttiere zum gleichen Zeitpunkt. Dies läßt auf eine kontinuierlich wachsende immunologische Reaktionsbereitschaft seitens der Fohlen gegenüber einer sich vergrößernden Weideinfektion mit Endoparasiten schließen. Die im Vergleich zu Adulttieren verstärkte Antikörperantwort liegt in einer jungtierspezifischen, vermehrten Sensibilität gegen Nematoden begründet. Aber auch die höhere Anzahl von Wanderstadien und eine gesteigerte Abwehrreaktion auf eine Reinfektion mit Cyathostomen werden diskutiert (HERD und KENT, 1986). In der indirekten Hämagglutination konnten KLEI et al. (1983) mit einem somatischen Antigen aus adulten Exemplaren von *Str. vulgaris* nachweisen, daß bei konventionell aufgezogenen, natürlich auf der Weide infizierten Ponys, bereits bestehende hohe Antikörpertiter auftraten. Letzteres fand auch im IFAT in Bezug auf die IgG-Titer Bestätigung. Das steht im Einklang mit den ELISA-Ergebnissen der Stuten, die alle schon zu Beginn der Untersuchungen hohe IgG-Aktivitätswerte besaßen und diese im weiteren Verlauf des Versuchs, trotz nachgewiesener Reinfektionen mit kleinen Strongyliden, auch beibehielten.

ES-Produkte lebender Helminthen werden vor allem aufgrund ihres homogenen Charakters als geeignete Grundlage spezifischer Antigene angesehen (ALMOND und PARKHOUSE, 1985), so daß in der Diagnostik störende Kreuzreaktionen zwischen unterschiedlichen Nematodenspezies reduziert auftreten. Letzteres konnte im ELISA mit dem ES-Antigen nachvollzogen werden. Demzufolge erreichten die Stuten der Versuchsgruppen (alle von kleinen Strongyliden befallen) höhere Extinktionswerte als mit *Str. vulgaris* monoinfizierte Ponys, die sich zusätzlich nur geringfügig von dem Ergebnis parasitenfreier Fohlen unterschieden. Alternativ dazu befanden sich bei

der Anwendung des somatischen Antigens die Werte der Str. vulgaris-moninfizierten Tiere im Bereich derjenigen der anderen Probanden, was bei dieser Antigenpräparation die kreuzreagierende Eigenschaft unterstreicht. Deshalb kann eine Erhöhung der spezifischen Antikörperaktivität, wie sie im Verlauf der Weideperiode mit dem SOM AG bei den Fohlen festgestellt wurde, durch den endogenen Entwicklungszyklus von *Parascaris equorum* nicht ausgeschlossen werden. Patente Infektionen dieser typischen Jungtier-erkrankung fanden sich bei allen Fohlen am 6. 08. 87. In diesem Zusammenhang darf die intensive antigene und immunogene Eigenschaft dieser Parasitenspezies (BELLO, 1985) sowie nachgewiesene Kreuzreaktionen im ELISA zwischen Oberflächenantigenen von *Parascaris equorum* mit großen und kleinen Palisadenwürmern nicht unerwähnt bleiben (NICHOL und MASTERSON, 1987).

Die anfänglich hohe Antikörperaktivität und Standardabweichung, wie sie aus dem Verlauf der mit dem ES-Antigen erstellten Werte bei den Fohlen ersichtlich ist, kann durch die unterschiedliche Absorption kolostraler Antikörper erklärt werden, die unspezifische Reaktionen hervorrufen. KENT und BLACKMORE (1985) berichteten über variierende IgG-Konzentrationen bei Saugfohlen in den ersten beiden Lebensmonaten. Eine Übereinstimmung mit dem Infektionsgeschehen auf der Weide besteht bei den ELISA-Werten des ES-Antigens nicht. Erst ab 9. 09. zeichnete sich nämlich bei den Jungtieren ein geringer Anstieg ab, der unter dem Aspekt von Reinfektionen in der zweiten Hälfte der Weideperiode gesehen werden könnte. Wie der Vergleich der Kontrollfohlen und der Jungtiergruppen zeigt, besteht kein Zusammenhang zwischen der Behandlung mit Ivermectin am 6. 08. und der nach diesem Zeitpunkt sich entwickelnden spezifischen IgG-Aktivität. Bei den Stuten zeichnete sich nach der Therapie auch keine deutliche Änderung innerhalb der ELISA-Werte ab. Eine Korrelation zwischen der von HERD und KENT (1986) beschriebenen Verringerung der γ -Globulin-Konzentration einen Monat nach Einsatz von Ivermectin und der hier gemessenen spezifischen Antikörperaktivität besteht somit nicht. Die dargestellten Ergebnisse unterstreichen die Problematik, zuverlässige immundiagnostische Methoden zu entwickeln, da die Pferde und hier vor allem die Jungtiere unter natürlichen Bedingungen mit unterschied-

lichen Helminthenspezies infiziert sind. Um Kreuzreaktionen zu minimieren, könnten ES-Produkte als Grundlage für die Gewinnung homologer Antigene dienen. Dazu bedarf es noch besonderer Forschungsarbeit für Trennungs- und Reinigungsschritte.

Wie mit dem Agglutinationstest festgestellt werden konnte, erhöhte sich unter natürlichen Infektionsbedingungen und zwei im Abstand von 16 Wochen durchgeführten Ivermectin-Behandlungen der Anteil an Probanden, deren Serum-IgG(T)-Konzentration über 15 g/l lag. Während bei den Warmblutstuten der Höchstwert (17,6 %) am 6. 08. 87 erreicht wurde, zeichnete sich bei den Haflingerstuten ein Anstieg bis 44,4 % (26. 11. 87) ab. Im Vergleich dazu reduzierte sich mit einer in kürzeren Abständen (4 Wochen) durchgeführten Therapie (Oxfendazol- oder Ivermectinpaste) bei einer weidenden Ponyherde der Tieranteil, welcher einen IgG(T)-Grenzwert von 14 g/l überschritt, von 58 % auf 23 % (KENT und BLACKMORE, 1985). Dies deutet auf eine direkte Beziehung zwischen Behandlungsintensität und IgG(T)-Konzentration (> 15 g/l) in einer Population hin und findet zusätzlich durch die Ergebnisse der Jungtiergruppen Bestätigung. Bei 60 % der nicht therapierten Kontrollfohlen wurden nämlich am Ende der Untersuchungen (26. 11.) Werte über 15 g/l diagnostiziert, was sich deutlich von den zum selben Zeitpunkt ermittelten Daten der zahlenmäßig gleich starken Haflingerfohlen (alle < 15 g/l) und den Warmblutfohlen (16,6 % > 15 g/l) unterschied.

Auf Grund der bisherigen Beobachtungen bedurfte es einer genaueren zeitbezogenen Überprüfung der Beeinflussung der IgG(T)-Konzentration durch den Einsatz von Ivermectin. So konnte bei vier von fünf Stuten, deren Serum-IgG(T)-Werte am 6. 08. zwischen 15 g/l und 33 g/l lagen, ein Absinken unterhalb des Schwellenwertes (15 g/l) 5 Wochen nach der Therapie festgestellt werden. Dies läßt Parallelen zu früheren Untersuchungen erkennen, in denen ebenfalls dasselbe Chemotherapeutikum Verwendung fand. Während nach zweimaliger Behandlung innerhalb von 4 Wochen ein Abfall von 16 g/l auf ca. 14 g/l nachweisbar war (KENT und BLACKMORE, 1985), traten bei der einmaligen Verabreichung nach 8 Wochen Werte unterhalb von 15 g/l auf (HERD und KENT, 1986). In diesem Zusammenhang sind auch

die Ergebnisse von NUYTTEN et al. (1983) zu sehen, die eine Reduktion der β -Globuline natürlich infizierter Pferde einen Monat nach Anwendung von Ivermectin beobachteten, zumal das IgG(T) als Hauptbestandteil dieser Proteinfraction gilt (PATTON et al., 1978).

Der Rückgang der IgG(T)-Konzentration wird als Folge der larviziden Wirkungsweise des Endektozides diskutiert (NUYTTEN et al., 1983, HERD und KENT, 1986). Infolge der langen Präpatenzzeit von *Str. vulgaris* und der versuchsspezifischen Bedingungen (Behandlungsintervalle) lassen sich über das zeitliche Auftreten von Wanderstadien dieser Parasitenspezies keine Aussagen geben. Letztere sind auf experimenteller Basis als Auslöser für einen Anstieg der β -Globuline und somit der IgG(T)-Werte verantwortlich (ROUND, 1970; AMBORSKI et al., 1974; PATTON et al., 1978; KENT, 1987). Dies bewirken auch kleine Strongyliden (ROUND, 1970), wobei unter natürlicher Infektion bei Jungtieren höhere IgG(T)-Werte erzielt werden können als bei Adulten (HERD und KENT, 1986).

Die semiquantitative Bestimmung der IgG(T)-Konzentration läßt keine Übereinstimmung mit dem Infektionsgeschehen kleiner Strongyliden erkennen, was besonders deutlich bei den Jungtieren zu sehen war, die trotz hoher EpG am 6. 08. und permanenten Reinfektionen keinerlei Agglutination im Schnelltest zeigten. Auch positive Reagenten innerhalb der Warmblutstuten-Gruppe besaßen bis auf Nr. 22 durchweg eine EpG $\leq$ 67 bis 133.

Die individuelle Verwertbarkeit von IgG(T)-Analysen unterliegt Einschränkungen, die auch in Bezug auf den Agglutinationstest und seiner Interpretation Gültigkeit besitzen. So schließt eine niedrige Serum-IgG(T)-Konzentration die Präsenz von Endoparasiten in einem Pferd bei weitem nicht aus (KENT, 1987). Dies ist vor allem unter dem Aspekt natürlicher Haltungsbedingungen zu sehen, bei denen Pferde Reinfektionen ausgesetzt sind, die wie experimentell bei *Str. vulgaris* beobachtet werden konnte, keine oder nur geringe β -Globulin- oder IgG(T)-Konzentrationsänderungen hervorrufen (AMBORSKI et al., 1974; PATTON et al., 1978; KENT, 1987). Weitere falsch negative Aussagen werden durch langandauernde immunologische Reaktionszeiten verursacht, bis eine Serumkonversion meßbar wird (PATTON et al., 1978; HERD und KENT, 1986).

Die Beibehaltung der hohen IgG(T)-Werte (15 bis 33 g/l) 5 Wochen nach Ivermectin-Behandlung (Warmblutstute Nr. 26) könnte mit einer verlängerten Antigenpräsenz erklärt werden, die durch langsam sich auflösende Larven zustande kommt (SLOCOMBE, 1987). Weitere falsch positive Ergebnisse müssen beachtet werden, wenn pathologische Ereignisse, wie persistierende Gastroenteropathien mit intestinalem Proteinverlust, die IgG(T)- und β -Globulin-Konzentration monatelang über die Normallevel anheben (HERD und KENT, 1986).

Unter Berücksichtigung der dargestellten Resultate kann die Anwendung des Agglutinationstests zur Überwachung des Therapieerfolges herangezogen werden. Im Hinblick auf die Diagnosemöglichkeit präpatenter Strongylideninfektionen müssen unter natürlichen Bedingungen falsch positive und falsch negative Ergebnisse Beachtung finden. Zusätzlich bestehen neben der unzureichenden Spezifität des IgG(T) (HERD und KENT, 1986) auch keine eindeutigen Grenzen in den IgG(T)-Niveaus, die eine unterschiedlich starke Parasiten-Invasion hinreichend gut beschreiben (BAILEY et al. 1984).

V. Zusammenfassung

Im Versuchszeitraum vom 13. 04. 87 bis 26. 11. 87 wurde bei 27 Stuten und 29 Fohlen des Bayer. Haupt- und Landgestütes Schwaiganger mittels koproskopischer und serologischer Verfahren das natürliche Infektionsgeschehen mit Strongyliden überprüft.

Die Kotuntersuchungen der Stuten ergaben vor Weideaustrieb eine 100 %ige Befallsextenstität mit kleinen und eine 7,4 %ige mit großen Strongyliden (*Str. vulgaris*). Die gute anthelminthische Wirksamkeit von Ivermectin fand ihre Bestätigung bei den Warmblutstuten, bei denen eine Reduktion der Eiausscheidung über 77 Tage erfolgte. 5 Wochen nach der zweiten Behandlung waren nur bei 6 % der Warmblut- und 11 % der Haflingerstuten wenige Strongylideneier in der Flotation nachweisbar. Die höhere Anfälligkeit der Jungtiere gegenüber Infektionen und Reinfektionen belegten die über den Adulttieren liegenden mittleren EpG.

Im ELISA zeichnete sich mit dem somatischen Antigen nur bei den Fohlen eine deutliche Zunahme der Antikörperaktivität ab. Die Stuten behielten die bereits zu Beginn der Untersuchungen ermittelten hohen IgG-Aktivitätswerte bei. Das ES-Antigen besaß, wie Vergleichsuntersuchungen mit monoinfizierten Pferden zeigten, eine höhere Spezifität und geringere kreuzreagierende Eigenschaften, keine der Antigenpräparationen beschrieb jedoch den Infektionsverlauf exakt.

Im Vergleich zur Kontrollgruppe besaß am Ende der Untersuchungen ein geringerer Anteil der behandelten Pferde Serum-IgG(T)-Konzentrationen über 15 g/l. Aufgrund des larviziden Effektes von Ivermectin wurde experimentell ein Rückgang der IgG(T)-Werte nachgewiesen. Obwohl der Agglutinationstest zur Überwachung des Therapieerfolges in einer Pferdepopulation herangezogen werden kann, bleiben individuelle diagnostische Möglichkeiten eingeschränkt, was vor allem in der verringerten Sensitivität und Spezifität der IgG(T)-Konzentration unter natürlichen Infektionsbedingungen begründet ist.

Summary

Natural infections with Strongyles in studhorses with reference to the possibilities and limitations of serological investigations

In the investigation period from 13. 04. 87 to 26. 11. 87 the natural course of infection with strongyles was studied by means of coproscopical and serological methods in 27 mares and 29 foals of the Bavarian main and state studfarm Schwaiganger.

The examination of the stool showed in mares, before the beginning of the grazing season, an infection rate of 100 % with small and a rate of 7,4 % with large strongyles (*Str. vulgaris*). The high anthelmintic efficacy of ivermectin was proved in warm blood mares in which a reduction of egg output over a period of 77 days was registered. 5 weeks after the second treatment in only 6 % of the warm blood- and 11 % of the Haflinger mares few strongyle eggs could be detected by means of flotation. The average EpG in foals was higher than in older horses, which proved that younger animals are more susceptible to infections and reinfections.

Only in foals, the ELISA with the somatic antigen showed a distinct increase of antibody activity. The mares retained the high IgG-values of activity, which were found already at the beginning of the investigations. The ES-antigen had, as comparative studies in monoinfected horses showed, a higher specificity and less crossreacting characteristics. However, none of the antigenic preparations could show the course of infection accurately.

In comparison to the control group at the end of investigations a smaller percentage of the treated horses showed serum-IgG(T)-concentrations above 15 g/l. On the basis of the larvicidal efficacy of Ivermectin a decrease of the IgG(T)-values was proved experimentally. Even though the agglutination test can be applied for control of the effectiveness of therapy in a horse population, individual diagnostic possibilities remain limited. This is established in the reduced sensitivity and specificity of the IgG(T)-concentration under natural conditions of infection.

VI. Literaturverzeichnis

- ALMOND, N. M. and R. M. E. PARKHOUSE (1985): Nematode antigens.
In: PARKHOUSE: Current Topics in Microbiology and Immunology, 120
Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 173-203
- AMBORSKI, G. F., T. R. BELLO and B. J. TORBERT (1974): Host response to experimentally induced infections of *Strongylus vulgaris* in parasite-free and naturally infected ponys.
Amer. J. vet. Res., 35, 1181-1188
- ANDERSON, I. G. and M.-A. HASSLINGER (1982): Cyathostominae and other strongyles of horses in the Federal Republic of Germany.
J. S. Afr. vet. med. Ass., 53, 195-197
- ANNEN, J. M., J. ECKERT und U. HESS (1975): Eine einfache Methode zur Gewinnung von *Toxocara canis*-Antigen für die indirekte Immunfluoreszenz-Technik.
Acta Trop., 32, 38-46
- BAILEY, M., J. KENT, S. C. MARTIN, S. LLOYD and E. J. L. SOULSBY (1984): Haematological and biochemical values in horses naturally infected with *Strongylus vulgaris*.
Vet. Rec., 115, 144-147
- BAUER, C., R. GANDRAS, M. STOYE und H. J. BÜRGER (1983): Eine Feldstudie zur Anthelminthika-Resistenz von Strongyliden beim Pferd.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 96, 312-316
- BAUER, C., J. C. MERKT, G. JANKE-GRIMM and H. J. BÜRGER (1986): Prevalence and control of benzimidazole-resistant small strongyles on german thoroughbred studs.
Vet. Parasit., 21, 189-203
- BELLO, R. T. (1985): The insidious invasive verminous antigens of the horse.
J. Equine vet. Sci., 5, 163-167
- BOCH, J. und R. SUPPERER (1983): Veterinärmedizinische Parasitologie.
3. Auflage, Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg, 259-270
- BUENO, L., Y. RUCKEBUSCH and P. H. DORCHIES (1979): Disturbances of motility in horses associated with strongyle infections.
Vet. Parasit., 5, 253-260

- BÜRGER, H. J. and C. BAUER (1987): Efficacy of four anthelmintics against benzimidazole-resistant cyathostomes of horses.
Vet. Rec., 120, 293-296
- BULLOCK, S. L. and K. W. WALLS (1977): Evaluation of some of the parameters of the enzyme-linked immunospecific assay.
J. infect. Dis., 136, 279-285
- BURKHARDT, E. (1983): Zur Pathologie des Strongylus (Delafondia) vulgaris-Befalls beim Pferd - eine Übersicht.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 96, 37-43
- CHIEJINA, S. N. and J. A. MASON (1977): Immature stages of Trichonema spp. as a cause of diarrhoea in adult horses in spring.
Vet. Rec., 100, 360-361
- CHURCH, S., D. F. KELLY and M. J. OBWOLO (1986): Diagnosis and successful treatment of diarrhoea in horses caused by immature small strongyles apparently insusceptible to anthelmintics.
Equine vet. J., 18, 401-403
- COFFMAN, J. (1979): Plasma protein electrophoresis.
Vet. Med. / Small Anim. Clin., 74, 1251-1258
- COFFMAN, J. R. and K. L. CARLSON (1971): Verminous arteritis in horses.
J. Amer. vet. med. Ass., 158, 1358-1360
- DAHME, E. und E. WEISS (1983): Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere.
3. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, 175-176
- DE SAVIGNY, D. and A. VOLLER (1980): The communication of ELISA data from laboratory to clinician.
J. Immunoassay, 1, 105-128
- DI PIETRO, J. A., K. S. TODD and V. REUTER (1986): Anti-strongyle activity of a propylene glycol-glycerol formal formulation of ivermectin in horses (mares).
Amer. J. vet. Res., 47, 874-875
- DRUDGE, J. H. (1972): Metazoal diseases: Endoparasitisms
In: CATCOTT/SMITHCORS: Equine medicine and surgery, 2. Aufl.
American Veterinary Publications, Wheaton, 157-179

- DRUDGE, J. H., E. T. LYONS and J. SZANTO (1966): Pathogenesis of migrating stages of helminths, with special reference to *Strongylus vulgaris*.
In: SOULSBY: Biology of Parasites
Academic Press New York/London, 199-214
- DUNCAN, J. L. (1973): The life cycle, pathogenesis and epidemiology of *S. vulgaris* in the horse.
Equine vet. J., 5, 20-25
- DUNCAN, J. L. (1974): Field studies on the epidemiology of mixed strongyle infection in the horse.
Vet. Rec., 94, 337-345
- DUNCAN, J. L. and H. M. PIRIE (1973): Strongyle infection in horses: Life cycle, pathogenesis, epidemiology and immunity.
In: URQUHART/ ARMOUR: "Helminth diseases of cattle, sheep and horses in Europe".
Proc. Symp. Univ. Glasgow/Scotland, 115-126
- DUNCAN, J. L. and H. M. PIRIE (1975): The pathogenesis of single experimental infections with *Strongylus vulgaris* in foals.
Res. vet. Sci., 18, 82-93
- EK, N. (1974): Serum levels of the immunoglobulins IgG and IgG(T) in horses.
Acta vet. scand., 15, 609-619
- ENGVAL, E. and P. PERLMANN (1972): Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA. III. Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes.
J. Immunol., 109, 129-135
- ENIGK, K. (1951): Weitere Untersuchungen zur Biologie von *Strongylus vulgaris* (Nematodes) im Wirtstiere.
Z. Tropenmed. Parasit., 2, 523-535
- ENIGK, K. (1983): Anmerkung zur endogenen Entwicklung von *Strongylus vulgaris*.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 96, 228-231
- ERSHOV, V. S. (1970): The biology of horse strongyles and the allergic reactions caused by them.
In: BRYANS/GERBER: "Equine Infectious Diseases II"
Proc. 2. Int. Conf. equine Inf. Dis. (Paris, 11.-13.7. 1969)
Karger, Basel/ München/New York, 304-309

- EYSKER, M., J. JANSEN and M. H. MIRCK (1984): Inhibited development of Cyathostominae in the horse in the early third stage.
Res. vet. Sci., 37, 355-356
- FRERICHS, W. M., A. A. HOLBROOK and P. C. ALLEN (1976): Effect of antiparasitic medication in ponies on pasture.
J. Amer. vet. med. Ass., 168, 53-56
- GERHARDS, H. und M. ROSENBRUCH (1984): Intermittierendes Hinken beim Pferd - Diskussion ätiologischer und therapeutischer Aspekte an Hand eines Fallberichts.
Prakt. Tierarzt, 65, 645-653
- GIBBS, H. C. (1986): Hypobiosis in parasitic nematodes - an update
Adv. Parasit., 25, 129-174
- GILES, C. J., K. A. URQUART and J. A. LONGSTAFFE (1985): Larval cyathostomiasis (immature trichonema-induced enteropathy): A report of 15 clinical cases.
Equine vet. J., 17, 196-201
- GREER, G. J., T. R. BELLO and G. F. AMBORSKI (1974): Experimental infection of Strongyloides westeri in parasite-free ponies.
J. Parasit., 60, 466-472
- HASSLINGER, M.-A. (1963): Untersuchungen an Schlachtpferden über Vorkommen und Sitz verschiedener kleiner Strongyliden-Arten.
Vet. -med. Diss., FU Berlin
- HASSLINGER, M.-A. (1981): Untersuchungen über den Einfluß verschiedener Temperaturen auf Eier und Larven von Pferdestrongyliden sowie das Verhalten dieser exogenen Stadien auf der Weide.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 94, 1-5
- HASSLINGER, M.-A. (1985): The quantitative portion of different species of small equine strongyles and their reduced sensitivity against benzimidazole.
Proc. 11th Conf. WAAVP (Rio de Janeiro, 5.-9.8. 1985), 191
- HASSLINGER, M.-A. (1986): Biologische und epizootologische Aspekte zu Parasitenbefall und -bekämpfung beim Pferd.
Prakt. Tierarzt, 67, 779-780, 789-799
- HASSLINGER, M.-A. und H. REHM (1968): Die wichtigsten Pferdeparasiten heute.
Reiter Revue, 11, 254-256

- HASSLINGER, M.-A. und D. BARTH (1982): Untersuchungen zur Wirksamkeit von Ivermectin gegen Endoparasiten des Pferdes.
Dtsch. tierärztl. Wschr., 89, 62-65
- HERD, R. P. (1986): Epidemiology and control of equine strongylosis at Newmarket.
Equine vet. J., 18, 447-452
- HERD, R. P., K. L. WILLARDSON and A. A. GABEL (1985): Epidemiological approach to the control of horse strongyles.
Equine vet. J., 17, 202-207
- HERD, R. P. and J. E. KENT (1986): Serum protein changes in ponies on different parasite control programmes.
Equine vet. J., 18, 453-457
- HIEPE, T. (1985): Lehrbuch der Parasitologie
Bd.3, Veterinärmedizinische Helminthologie
VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 241-248
- JASKO, D. J. and L. ROTH (1984): Granulomatous colitis associated with small strongyle larvae in a horse.
J. Amer. vet. med. Ass., 185, 553-554
- JEGGO, M. H. and M. M. H. SEWELL (1977): Treatment of prepatent equine strongyliasis.
Vet. Rec., 101, 187
- JONAS, D., M.-A. HASSLINGER und E. WOLPERT (1972): Neue Aspekte zur Endoparasitenbekämpfung beim Pferd.
Prakt. Tierarzt 53, 427-430
- KAMHUBER, A. (1987): Prophylaktische und therapeutische Möglichkeiten gegen die wichtigsten Parasiten beim Pferd unter besonderer Berücksichtigung des neuen Endektozides Ivermectin.
(Eine Literaturauswertung)
Vet. -med. Diss., München
- KENT, J. E. (1987): Specific serum protein changes associated with primary and secondary Strongylus vulgaris infections in pony yearlings.
Equine vet. J., 19, 133-137
- KENT, J. E. and D. J. BLACKMORE (1985): Turbidimetric measurement of IgGT in the serum of healthy thoroughbreds and ponies.
Equine vet. J., 17, 119-124

- KLEI, T. R., B. J. TORBERT, M. R. CHAPMAN and M. A. M. TURK (1984): Efficacy of ivermectin in injectable and oral paste formulations against eight-week-old *Strongylus vulgaris* larvae in ponies. Amer. J. vet. Res., 45, 183-185
- KLEI, T. R., M. R. CHAPMAN, B. J. TORBERT and J. R. McCLURE (1983): Antibody responses of ponies to initial and challenge infections of *Strongylus vulgaris*. Vet. Parasit., 12, 187-198
- LICHTENFELS, J. R. (1975): Helminths of domestic equids. Illustrated keys to genera and species with emphasis on North American forms. Proc. helminth. Soc. Wash., 42, 2-13
- LICHTENFELS, J. R. and T. R. KLEI (1988): *Cylicostephanus torbertae* sp.n. (Nematoda: Strongyloidea) from *Equus caballus* with a discussion of the genera *Cylicostephanus*, *Petrovinema*, and *Skrjabinodentus*. Proc. helminth. Soc. Wash., 55, 165-170
- LITTLE, P. B., U. S. LWIN and P. FRETZ (1974): Verminous encephalitis of horses: Experimental induction with *Strongylus vulgaris* larvae. Amer. J. vet. Res., 35, 1501-1510
- LOWRY, D. H., N. J. ROSEBROUGH, A. L. FARR and R. J. RANDALL (1951): Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193, 265-275
- MAKIMURA, S., J. TOMODA and K. USUI (1975): Quantitative studies on immunoglobulins and transferrin in equine serum. Jap. J. vet. Sci., 37, 187-198
- MCCRAW, B. M. and J. O. D. SLOCOMBE (1974): Early development of and pathology associated with *Strongylus edentatus*. Can. J. comp. Med., 38, 124-138
- MCCRAW, B. M. and J. O. D. SLOCOMBE (1978): *Strongylus edentatus*: Development and lesions from ten weeks to patency. Can. J. comp. Med., 42, 340-356
- MCCRAW, B. M. and J. O. D. SLOCOMBE (1985): *Strongylus equinus*: Development and pathological effects in equine hosts. Can. J. comp. Med., 49, 372-383

- McGUIRE, T. C., T. B. CRAWFORD and J. B. HENSON (1973): The isolation, characterisation and functional properties of equine immunoglobulin classes and subclasses.
In: BRYANS/GERBER: "Equine Infectious Diseases III"
Proc. 3. Int. Conf. equine Inf. Dis. (Paris, 17.-21.7. 1972)
Karger, Basel/München/New York, 365-381
- MICHEL, J. F. (1974): Arrested development of nematodes and some related phenomena.
Adv. Parasit., 12, 279-366
- MONTGOMERY, P. C. (1973): Molecular aspects of equine antibodies.
In: BRYANS/GERBER: "Equine Infectious Diseases III"
Proc. 3. Int. Conf. equine Inf. Dis. (Paris, 17.-21.7. 1972)
Karger, Basel/München/New York, 343-363
- MÜLLER, B. (1953): Über die Entwicklung und Differenzierung der Trichonema-Larven in der Darmwand des Pferdes.
Arch. exp. Vet.-Med., 1, 58-84
- NICHOL, C. and W. J. MASTERSON (1987): Characterisation of surface antigens of Strongylus vulgaris of potential immunodiagnostic importance.
Mol. Biochem. Parasit., 25, 29-38
- NUYTTEN, J., E. MUYLLE, C. VAN DEN HENDE, W. OYAERT, K. VLAMINCK and F. DE KEERSMAEKER (1983): Clinical evaluation of ivermectin against migrating worm larvae in horses.
Zbl. Vet. Med. B., 30, 349-355
- OGBOURNE, C. P. (1975): Epidemiological studies on horses infected with nematodes of the family Trichonematidae (Witenberg 1925).
Int. J. Parasit., 5, 667-672
- OGBOURNE, C. P. (1978): Pathogenesis of cyathostome (Trichonema) infections of the horse. A review.
Misc. publ. 5, Commonwealth Inst. Helminthol., Glasgow, 4-18
- OGBOURNE, C. P. and J. L. DUNCAN (1985): Strongylus vulgaris in the horse: its biology and veterinary importance.
Misc. publ. 9, Commonwealth Inst. Parasit., Glasgow, 13-38
- OOMS, L., W. OYAERT, E. MUYLLE, C. VAN DEN HENDE and H. DECRAEMERE (1976): Electrophoresis as an aid to the diagnosis of helminthiasis and especially of verminous aneurysms in horses.
Vlaams Diergeneesk. Tijdschr., 45, 290-299

- PATTON, S., R. E. MOCK, J. H. DRUDGE and D. MORGAN (1978): Increase of Immunoglobulin T concentration in ponies as a response to experimental infection with the nematode *Strongylus vulgaris*.
Am. J. vet. Res., 39, 19-23
- ROSENBRUCH, M. und C. BAUER (1983): Bildbericht: Enteritis parasitaria beim Pferd.
Dtsch. tierärztl. Wschr., 90, 297-340
- ROUND, M. C. (1968a): The diagnosis of helminthiasis in horses.
Vet. Rec., 82, 39-43
- ROUND, M. C. (1968b): The course of naturally acquired helminth infections of horses given regular anthelmintic treatment.
Res. vet. Sci., 9, 583-590
- ROUND, M. C. (1970): The development of strongyles in horses and the associated serum protein changes.
In: BRYANS/GERBER: "Equine Infectious Diseases II"
Proc. 2. Int. Conf. equine Inf. Dis. (Paris, 11.-13.7. 1969)
Karger, Basel/München/New York, 290-303
- ROUND, M. C. (1971): Some aspects of naturally acquired helminthiasis of horses.
Equine vet. J., 3, 31-35
- ROUND, M. C. (1973): Parasitism in equines.
Vet. Rec., 93, 547
- ROUSE, B. T. (1971): The immunoglobulins of adult equine and foal sera: A quantitative study
Brit. vet. J., 127, 45-52
- SCHATZMANN, U., K. PFISTER und K. SCHMITT (1986): Erfahrungen mit Ivermectin in einem größeren Pferdebestand.
Prakt. Tierarzt 6, 649-652
- SCHOTMAN, A. J. H. (1963): Het serumeiwitspectrum van gezonde en zieke paarden en pony's, bepaald met behulp van de papier-elektroforese.
T. Diergeneesk., 88, 67-90

- SCHULZE, J. L., W. A. BERGFELD and R. T. WALL (1983): Serum protein electrophoresis as an aid in diagnosis of equine verminous arteritis.
Vet. Med./Small anim. Clin., 78, 1279-1280
- SINGER, J. M. and C. M. PLOTZ (1956): The latex fixation test. I. Application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis.
Amer. J. Med., 21, 888-892
- SLOCOMBE, J. O. D. (1987): Die Bekämpfung der Strongylus-vulgaris Infektion der Equiden mit Ivermectin.
Tierärztl. Umsch., 42, 408-413
- SLOCOMBE, J. O. D. and J. F. COTE (1984): Effectiveness of ivermectin paste for removal of nematodes in the horse.
Can. vet. J., 25, 386-388
- STÖCKL, W. (1956): Elektrophoretische Serumuntersuchungen bei Haustieren unter normalen Bedingungen und nach Antigenezufuhr. (Mit einem Beitrag über Adsorbatvakzinen)
Wien. tierärztl. Mschr., 43, 403-429
- TEREDesai, A. (1975): Granulomatöse Lymphadenitis beim Pferd, bedingt durch Strongylus vulgaris-Larven.
Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 88, 61-62
- VAN DER SCHEER, J. and R. W. G. WYCKOFF (1940): An electrophoretic study of tetanus antitoxin sera.
Proc. Soc. exp. Biol. Med., 43 427-428
- VOLLER, A., A. BARTLETT and D. E. BIDWELL (1978): Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques.
J. clin. Path., 31, 507-520
- WEIR, R. C. and R. R. PORTER (1966): Comparison of the structure of the immunoglobulins from horse serum.
Biochem. J., 100, 63-68
- WEIR, R. C., R. R. PORTER and D. GIVOL (1966): Comparison of the C-terminal amino-acid sequence of two horse immunoglobulins IgG and IgG(T).
Nature 212, 205-206

WETZEL, R. (1951): Verbesserte McMaster-Kammer zum Auszählen von Wurmeiern.

Tierärztl. Umsch., 6, 209-210

WYNNE, E., J. O. D. SLOCOMBE and B. N. WILKIE (1981): Antigenic analyses of tissues and excretory and secretory products from *Strongylus vulgaris*.

Can. J. comp. Med., 45, 259-265

Herrn Prof. Dr. M.-A. Hasslinger möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und für die Betreuung herzlich danken.

Herrn Akad. Oberrat Dr. G. Weiland gilt mein besonderer Dank für die jederzeit freundliche Unterstützung sowie wissenschaftliche Beratung bei der Durchführung des serologischen Teiles der Arbeit.

Ferner danke ich der Leitung des Bayer. Haupt- und Landgestütes Schwaiganger und besonders Herrn VD Dr. E. Wolpert und Herrn Stutenmeister N. Juranek für ihre jederzeit tatkräftige Hilfe.

Schließlich möchte ich allen Mitarbeitern des Instituts, die mich bei dieser Arbeit unterstützten, meinen Dank aussprechen.

Lebenslauf

Name: PÖLLEIN, Wolfgang Valentin

geboren: 23. Mai 1960 in Münchberg, Kreis Hof

Familienstand: ledig

Staatsangehörigkeit: deutsch

Eltern: Johann Pöllein, Metzgermeister
Margareta Pöllein, geb. Schramm
Verwaltungsangestellte

Schulbildung: 5 Jahre Volksschule in Marktleugast /Ofr.
9 Jahre Gymnasium in Kulmbach /Ofr.
Abitur: Juni 1980

Wehrdienst: 01. 07. 1980 bis 30. 09. 1981 in Regensburg /Opf.

Studium: Wintersemester 1981/82 - Wintersemester 1986/87
Studium der Tiermedizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität München
Staatsexamen: 12. Februar 1987
Approbation: 25. März 1987

